

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**TUBERCULOSIS BOVINA: ANÁLISIS RETROSPECTIVO (2011-2013)**  
**DE MUESTRAS NACIONALES REMITIDAS AL LABORATORIO**  
**CENTRAL REGIONAL DE MONTERREY, A.C. PARA**  
**EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS**

**QUE PRESENTA**

**MVZ. ALEJANDRA PATRACA ROSAS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA**  
**OBTENER EL GRADO DE:**  
**MAESTRIA EN CIENCIA ANIMAL**

**MAYO 2015**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**TUBERCULOSIS BOVINA: ANÁLISIS RETROSPECTIVO (2011-2013)**  
**DE MUESTRAS NACIONALES REMITIDAS AL LABORATORIO**  
**CENTRAL REGIONAL DE MONTERREY, A.C. PARA**  
**EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS**

**QUE PRESENTA**

**MVZ. ALEJANDRA PATRACA ROSAS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA**  
**OBTENER EL GRADO DE:**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**MAYO 2015**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TUBERCULOSIS BOVINA: ANÁLISIS RETROSPECTIVO (2011-2013)**  
**DE MUESTRAS NACIONALES REMITIDAS AL LABORATORIO**  
**CENTRAL REGIONAL DE MONTERREY, A.C. PARA**  
**EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS**

**Aprobación de tesis por el comité**  
**particular de**

**MVZ. Alejandra Patraca Rosas**

---

**Dr. Ramiro Ávalos Ramírez**  
**Director de Tesis**

---

**Dr. Alberto Morales Loredó**  
**Director externo de Tesis**

---

**Dr. Alfredo Wong Gonzalez**  
**Co- Director**

---

**Dr. Rubén Cervantes Vega**  
**Co- Director**

ESCOBEDO, N.L. MÉXICO

MAYO 2015

## **DEDICATORIA**

A mis padres, que siempre han sido un ejemplo a seguir, quienes me han enseñado a siempre superarme, tanto en lo profesional como persona. Gracias por ese apoyo, por la ayuda y por estar ahí ante toda meta realizada. Por abrirme los ojos ante toda oportunidad que no logro ver. Este logro no sería posible sin su apoyo.

A mis hermanos, Jaime y Ana. Les doy las gracias porque aunque no estemos en el mismo lugar, sé que me apoyan y me animan a seguir adelante, no sería la persona que soy sin su apoyo incondicional.

A mis compañeros de maestría, con quienes pasé momentos increíbles, tanto positivos como negativos, siempre apoyándonos y ayudándonos cuando lo necesitábamos.

A mi tía Patricia Rosas Lopátegui, por animarme a seguir con mis estudios, quien creyó en mí y me enseñó que todo trabajo duro es bien premiado.

A mi esposo Carlos E. Garza Vargas, eres quien no me ha hecho perder mi camino, quien me ha apoyado ante toda decisión que he tomado, quien me alienta a seguir adelante y no darme por vencida, gracias por todo. Te amo

## **AGRADECIMIENTO**

Al Dr. Ramiro Ávalos Ramírez por ser mi guía en estos dos años que cursé mi grado, por pasar a ser parte de una persona importante en mi formación profesional, compartiendo conocimientos, un excelente equipo.

Al MVZ. Alberto Morales Loredó por permitirme el acceso al Laboratorio Central Regional de Monterrey, y darme las herramientas para la elaboración de mi investigación.

A Joel, Alex y Gaby quienes me brindaron apoyo en el laboratorio, compartiendo conocimientos y ayuda con los procedimientos que se manejan.

Al MVZ Patricia Flores Montiel, por permitirme el acceso a la información necesaria para este estudio, y ayudarme ante cualquier duda en el Laboratorio Central Regional de Monterrey.

Al Posgrado Conjunto Agronomía-Veterinaria, por abrirme sus puertas para crecer en mis estudios, y permitirme este gran logro.

A mis amigas, que siempre están ahí cuando las necesito, quienes me han apoyado y animado a lograr mis metas.

## ABREVIATURAS

TB	Tuberculosis Bovina
LCRM	Laboratorio Central Regional de Monterrey
NOM 031-ZOO-1995	Norma Oficial Mexicana 031-ZOO-1995
AB	Aislamiento Bacteriológico
HT	Histopatología
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
<i>M.bovis</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América
CR3	Receptor del complemento tipo 3
IFN $\gamma$	Interferón Gamma
Ag	Antígeno
TFN $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral Alfa
PPD	Extracto proteínico purificado
$\mu$ l	Microlitros
dNTP's	Desoxirribonucleótidos trifosfato
MgCl <sub>2</sub>	Cloruro de Magnesio
H <sub>2</sub> O	Agua
ADN	Ácido desoxirribonucleico
rpm	Revoluciones por minuto
Ct	Ciclo umbral

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO .....	1
ÍNDICE DE TABLAS .....	3
ÍNDICE DE FIGURAS .....	5
RESUMEN .....	6
1. INTRODUCCIÓN .....	9
1.1 Objetivos.....	11
1.2 Hipótesis.....	11
1.3 Justificación .....	11
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	12
2.1 Tuberculosis Bovina .....	12
2.1.1 Forma pulmonar .....	13
2.1.2 En tracto digestivo .....	14
2. 2 Patogenia .....	14
2.3 Mecanismos de patogenicidad .....	15
2.4 Pruebas Diagnósticas.....	16
2.4.1 Prueba de la Tuberculina .....	16
2.4.2 Examen macroscópico post-mortem .....	17
2.4.3 Aislamiento bacteriológico.....	17
2.4.4 Histopatología .....	18
2.4.5 Pruebas complementarias.....	18
2.4.6 NOM 031-ZOO-1995 .....	19

2.5 TB en México.....	27
2.5.1 Nacional .....	28
2.5.2 Internacional .....	29
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	30
3.1 Lugar del estudio .....	30
3.2 Clasificación de animales .....	30
3.3 Clasificación de muestras.....	31
3.4 Prueba de campo: Tuberculina.....	32
3.5 Aislamiento bacteriológico .....	35
3.6 Análisis Histopatológico .....	58
3.7 Pruebas complementarias .....	66
4. RESULTADOS .....	70
4.1 Resultados 2011 .....	70
4.2 Resultados 2012 .....	83
4.3 Resultados 2013.....	96
5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....	109
6. LITERATURA CITADA .....	111



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
Tabla 1. Animales positivos y negativos en el 2011 de muestras remitidas al LCRM.	70
Tabla 2. Resultado de muestras conforme a los 24 estados que remitieron muestras al LCRM	71
Tabla 3. Muestras sugestivas a TB y sus resultados en aislamiento bacteriológico. 2011	72
Tablas 4-27. Clasificación de muestras conforme a los estados que enviaron muestras al LCRM en el 2011.	73
Tablas 28-32. Tablas de contingencia conforme a la clasificación de muestras, 2011.	80
Tabla 33. Resultados totales, incluyendo especificidad y sensibilidad de ambas pruebas aprobadas por la NOM 031-ZOO-1995.	82
Tabla 34. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2012	83
Tabla 35. Resultados sugestivos a TB en histopatología, 2012	84
Tabla 36. Resultados totales, incluyendo especificidad y sensibilidad de ambas pruebas aprobadas por la NOM 031-ZOO-1995.	84
Tabla 37. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2012 conforme a los estados	85
Tablas 38-62. Clasificación de muestras conforme a los estados que enviaron muestras al LCRM, 2012.	86
Tablas 63-67. Tablas de contingencia conforme a la clasificación de muestras, 2012.	94
Tabla 68. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2013.	96

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
Tabla 69. Resultados sugestivos a TB en histopatología en el 2013.	97
Tabla 70. Listado de estados en el 2013, que enviaron muestras al LCRM para su diagnosis.	98
Tablas 71-95.Clasificación de muestras conforme a los estados que enviaron muestras al LCRM, 2013.	99
Tablas 96-100. Tablas de contingencia conforme a la clasificación de muestras, 2013.	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
Imagen 1. Zonas de control y erradicación en la República Mexicana	28
Imagen 2. Zonas de prevalencia acreditadas por la USDA a nivel República Mexicana	29

## RESUMEN

Muestras de bovinos remitidas al Laboratorio Central Regional de Monterrey, S.A. de C.V para el diagnóstico de *Mycobacterium bovis* fueron analizadas retrospectivamente para conocer la distribución y frecuencia de la tuberculosis en el ganado bovino de México. Todas las muestras fueron nódulos linfáticos obtenidos y enviados por médicos veterinarios zootecnistas certificados (NOM 018-ZOO-1994) de distintas partes de la Republica Mexicana. Las muestras analizadas fueron procesadas entre los años 2011 y 2013 y clasificadas de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-031-ZOO 1995 como: “matanza regular”, “expuesto, sospechoso, reactor, y desconocido.

Previamente a nivel campo se realizaron las pruebas de la tuberculina y la doble comparativa; animales positivos ante dichas pruebas de campo, según la NOM-031-ZOO 1995 se enviaron a sacrificio y se tomaron las muestras para ser enviadas al LCRM, donde se corrieron las pruebas necesarias para un diagnóstico de dichas muestras: donde la prueba definitiva es la del aislamiento bacteriológico (AB) (si se encuentra presente la bacteria en el cultivo), histopatología (HT) (donde hay dos posibles resultados negativo y compatible, no hay presencia a nivel tejido de bacterias y donde hay lesión y no hubo presencia del bacilo, correspondientemente) y pruebas complementarias que dictamina la NOM 031, tales como Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real, prueba a nivel molecular, para detectar y amplificar cierta parte del genoma de la bacteria, siendo una prueba relativamente nueva, pero con buenos resultados; al amplificar el segmento se tomará como positivo.

Al identificar las muestras positivas a las pruebas de campo, al aislamiento y a histopatología se considera, según la NOM 031-ZOO-1995 como un animal positivo a TB, y de ahí se toman las medidas necesarias para el control de la enfermedad en el hato, y establecer posibles factores de riesgos entre los

animales de los diferentes estados de la República. Son varios los factores que tienen importancia para tomar en cuenta, su procedencia, si vienen de un hato con animales positivos a las pruebas de campo pero negativos a las pruebas de laboratorio, si los animales fueron recientemente adquiridos por el productor y de dónde provienen los mismos, si la edad, raza o sexo influye en la transmisión de TB en México.

En el presente estudio retrospectivo se analizó los datos de 5, 482 muestras de nódulos linfáticos macerados, remitidas al LCRM en el periodo del 2011-2013 y sus resultados. De dichas muestras, 1, 454 muestras correspondieron al 2011; 1, 911 al 2012 y 2, 117 pertenecientes al 2013. Cabe mencionar que debido a falta de muestra en el LCRM, hubo muestras que no se tomaron en cuenta para este estudio.

En el 2011, el 4.26% fueron positivas, que corresponden a 62 muestras a TB y el 95.73% negativas. De las cuales 10 fueron animales reactivos; 10 de matanza regular; 7 animales expuestos; 3 sospechosos y 32 clasificaron como desconocido.

Para el 2012, en el LCRM se obtuvo un 5.9% de muestras positivas (113) y 94.08% con resultados negativos. Correspondientes a 28 reactivos; 17 de matanza regular; 10 con la clasificación de expuesto; 7 sospechosos y 51 desconocidos.

En el 2013, el 4.86% de las muestras remitidas dieron resultados positivas y el restante, 95.13% fueron negativos. Fueron un total de 103 muestras positivas a TB con las clasificaciones: 21 reactivos; 21 de matanza regular; 12 sospechosos; 7 expuestos y 17 con clasificación de origen desconocido.

Fueron los datos que se analizaron en este trabajo de investigación, para lograr un mejor entendimiento de cuál es el estatus ante dicha enfermedad en

México. Se pudo observar que conforme a lo establecido por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) hay una tendencia a la baja, de la enfermedad en México, y se espera para el 2018, que aumente la superficie nacional en fase de erradicación (prevalencia <0.50%).

## 1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana crónica granulomatosa que afecta principalmente los nodos linfáticos y el tejido pulmonar en el ganado, lo que provoca un deterioro del estado general de salud. Es causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) la cual es una micobacteria de crecimiento lento, microaerófila; miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*).

Hoy en día la TB sigue siendo una importante enfermedad del ganado vacuno y la fauna salvaje [1-3]. Ya que la enfermedad puede transmitirse a los humanos constituye un problema de salud pública, según la Organización Mundial de la Salud (OIE).[4]

Después de la infección, granulomas nodulares no vasculares conocidos como tubérculos pueden desarrollar [5]. La transmisión horizontal es la principal ruta de infección, a cual se puede ver exacerbada con el movimiento de ganado infectado. [6]

El método clásico para el diagnóstico es la prueba de la tuberculina, que consiste en medir la reacción inmunitaria tras la inyección intradérmica de una pequeña cantidad de antígeno. [7]

El aislamiento de las micobacterias en medios de cultivo selectivos y su posterior identificación mediante cultivo y pruebas bioquímicas o técnicas de ADN, tales como PCR, confirma la infección. [4]

Cuando se emite un diagnóstico de “compatible”, en histopatología, significa que el patólogo ha visto una lesión que tiene características indicativas de tuberculosis y que al mismo tiempo fue capaz de demostrar organismos teñidos ácido-resistentes usualmente contenidos en los macrófagos. [8]

Es necesario establecer un control estricto sobre la TB para que permita a la

ganadería desarrollarse, tanto en condiciones sanitarias como en mantener e incrementar la exportación de ganado bovino hacia otros países, principalmente Estados Unidos de América. Ésta puede verse afectada por la presencia de esta enfermedad, representando una pérdida de 450 millones de dólares anuales. [8]

A nivel nacional, se ha avanzado considerablemente, ya que antes de 1992, la prevalencia de tuberculosis bovina era desconocida y, actualmente, existen 25 regiones o estados de la República Mexicana clasificados de baja prevalencia en el país.

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) ha reconocido, de esas 25 regiones: 13 pueden exportar con una sola prueba de tuberculina; 11 con prueba de lote y prueba de hato de origen, y una región no requiere pruebas de tuberculina para exportar ganado a los Estados Unidos. [9]

México reconoce las áreas con una prevalencia de TB de  $<0.5\%$  (en fase de erradicación) que actualmente es del 83.35% del país; cuentan con reconocimiento Internacional. El resto (11.65%), comprenden zonas no reconocidas internacionalmente; en estas zonas existe una prevalencia cuyo rango oscila entre el 1 al 14.2%. [10]

Debido a esto, es importante hacer estudios retrospectivos a nivel laboratorio, sobre las muestras remitidas a los mismos. Para determinar cuáles zonas presentan mayor presencia de TB, si hay factores de riesgo en esas poblaciones, y si existe algún aumento de la prevalencia en dichas poblaciones. Estos estudios, junto con la eliminación de reactores a la prueba de tuberculina y ganado sospechoso, correcta desinfección local, implementación de buenas prácticas de higiene, seguido de revisiones periódicas de la situación sanitaria del hato mediante la prueba de la tuberculina, son las bases para un control eficaz de la tuberculosis en el ganado.



## **1.1 OBJETIVOS**

1.1.1. Analizar retrospectivamente la distribución y frecuencia de *M. bovis* en muestras de la República Mexicana remitidas al Laboratorio Central Regional de Monterrey, S.A. de C.V. durante los años 2011 al 2013.

1.1.2. Establecer la tendencia del comportamiento de la enfermedad mediante análisis comparativos de la frecuencia de detección de *M bovis* en un periodo de tres años.

## **1.2 HIPÓTESIS**

La frecuencia y distribución de *M. bovis* en la República Mexicana muestra una disminución en la población bovina en el período de estudio.

## **1.3 JUSTIFICACIÓN**

En México la campaña y la NOM consideran que un animal positivo a tuberculosis es cuando se tiene el aislamiento; con éste, procede la cuarentena y eliminación del hato y medidas de bioseguridad y limpieza. Por otra parte, México, en particular Nuevo León así como otros estados de la República mexicana, tienen un estatus de exportador por el reconocimiento de USDA, debido a los niveles de prevalencia bajos. Una de las principales actividades del sector pecuario es la ganadería bovina, y la exportación de este ganado. Es de suma importancia mantener dicho estatus, por lo que es vital establecer factores de riesgo en la población bovina de nuestro país.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Tuberculosis Bovina

La TB es una enfermedad infecciosa-contagiosa causada por una bacteria GRAM-positiva, el *M. bovis*; la cual no solo infecta a los bovinos, sino también un amplio rango de hospederos entre ellos, caprinos, ovinos, rumiantes silvestres, cerdos, perros, gatos, primates y el hombre. En general, la bacteria infecta su huésped por la vía aerógena, afectando los pulmones. Sin embargo, la infección progresa por las vías hematógena o linfática diseminándose a otras partes del cuerpo y afectando así otros órganos. La vía digestiva es importante para el contagio en terneros amamantados con leche que contiene la bacteria. Es una enfermedad de evolución crónica que se caracteriza por la formación de granulomas nodulares conocidos como tubérculos. El diagnóstico clínico es difícil debido falta de signos visibles, observándose sólo fiebre, pérdida progresiva de peso y cuando el pulmón está afectado una tos húmeda, culminando con la muerte. [11]

*M. bovis* pertenece al género *Mycobacterium*. Estas bacterias se caracterizan por ser bacilos ácido resistente, es decir resisten a la decoloración con alcohol acidificado una vez que han sido coloreadas con carbol-fucsina. El género está dividido en dos grandes grupos: el complejo *M. tuberculosis* y micobacterias no-tuberculosas. *M. bovis*, junto con *M. tuberculosis*, *M. microti* y *M. africanum* pertenecen al complejo.[6]

Todas estas micobacterias son patógenas y agentes etiológicos de tuberculosis en mamíferos. *M. tuberculosis* infecta principalmente al humano y *M. bovis* es el principal agente etiológico para los bovinos.[12]

El otro grupo, también llamado micobacterias atípicas (ambientales), tiene más

de 80 representantes, la mayoría no patógenos. Una característica importante de estas micobacterias es que no producen lesiones, tanto en el hombre como en los animales; se reconocen más de 500 cepas las cuales presentan mayor frecuencia de aislamiento son la *M. aquae* con las variedades a, b, c, seguidas de *M. fortuitum*, *M. terrae*, *M. vaccae* y *M. scrofulaceum*. [13] Estas micobacterias pueden afectar el diagnóstico para la tuberculosis bovina, tanto en pruebas serológicas como moleculares.

Los bacilos resisten relativamente mucho las influencias externas. En el jugo gástrico resisten por 4 horas. En carnes ahumadas, curadas se conservan por varios meses. Viven en moco pulmonar bovino de 30 – 40 días en luz difusa, si bien pierden ya su virulencia en 10 días, en heces intestinales bovinos al aire libre viven 38 horas, en otras circunstancias permanecen vivos, en verano 2 meses y en invierno hasta 5 meses. En el estiércol, paja y carne muere después de 3 meses del alumbramiento. Mueren en esputo desecado en 126 días en la oscuridad y expuestos al sol 5 horas, en moco pulmonar en putrefacción en 6 meses, en pulmón bovino enterrado en 167 días y en contenido intestinal mezclado con estiércol 178 días. En excretas, sangre y orina infectada, a 5 cm de profundidad en el suelo viven hasta 2 años, a 1 cm de profundidad viven de 11 a 12 meses. [14]

### **2.1.1 Forma pulmonar**

En los rumiantes *M. bovis* es eliminado, principalmente, a través de aerosoles (moco bronquial; tos) y leche, por lo que las vías de infección más importante en el bovino son la aérea (95-99%). [15]

El grado de infección por *M. bovis* en los animales depende de varios factores: número de organismos excretados, tiempo de exposición, el grado de cercanía de un animal afectado y el tamaño de la partícula que contiene las

micobacterias viables.

Al interior del organismo, dicha micobacteria genera una lesión granulomatosa en el lugar de la infección, generalmente es a nivel pulmonar. [15]

El bacilo resistente a la fagocitosis, así como a la respuesta inflamatoria aguda, por lo que persiste en el tejido afectado por largo tiempo. [16]

Provocando una neumonía granulomatosa que se caracteriza por presentar un número variable de nódulos caseosos en el pulmón.[17]

La enfermedad es más frecuente a medida que la edad del animal avanza, debido al carácter crónico de la misma, y del hecho que con el transcurso del tiempo hay más oportunidades de que los animales estén más expuestos a la infección. [18]

### **2.1.2 En tracto digestivo**

La vía digestiva es muy importante en terneros que se alimentan con leche cruda proveniente de vacas enfermas, debido a que el 1-2% de las vacas infectadas eliminan el microorganismo en la leche. Otras vías no usuales pero probables son: cutánea, congénita y genital.[19]

## **2. 2 Patogenia**

Las vías de infección más importantes en el bovino son la aérea, con un 95% a 99% de los casos, y la vía digestiva con el porcentaje complementario. Con menor importancia las vías congénita, genital y cutánea. La fuente infecciosa, principalmente es por las secreciones respiratorias que provienen de animales positivos y que diseminan la infección. Una vez dentro del animal, la micobacteria genera una pequeña lesión granulomatosa en el lugar de la infección (afección primaria). [17]

El sistema inmunológico del animal responde ante el organismo extraño, el cual pasa a ser fagocitado por los macrófagos, donde puede sobrevivir y ser enviado al nódulo linfático regional, se generará otra lesión granulomatosa, donde se eliminará o se encapsulará al patógeno (foco primario de infección).[15]

### **2.3 Mecanismos de patogenicidad**

Como se ha indicado, [20, 21], los más importantes de las micobacterias son:

- a) Su capacidad de unión a receptores específicos en la superficie de macrófagos. El receptor del complemento tipo 3 (CR3) tiene un rol importante en la patogenia de esta infección, ya que es el que permite la entrada de la micobacteria al interior del macrófago. También induce al macrófago a disminuir su capacidad funcional.
- b) Dentro del macrófago, tiene la capacidad de alterar las glicoproteínas en la membrana del fagosoma, impidiendo su maduración y evitando la fusión de los lisosomas.
- c) Este macrófago se vuelve funcionalmente inactivo, perdiendo su integración con el resto de las células del sistema inmunológico. Disminuye su capacidad de activarse en presencia de interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y de presentar antígenos (Ag), facilitando así su evasión a la respuesta celular protectora.
- d) La bacteria sensibiliza a las células del sistema inmunitario al efecto tóxico del Factor de necrosis tumoral alfa (TFN $\alpha$ ), la cual es una citoquina que induce la apoptosis de las células que sufren algún cambio en su morfología o en su funcionamiento.

## 2.4 Pruebas Diagnósticas

Para el diagnóstico de rutina de la tuberculosis bovina en un hato, la prueba más utilizada es la prueba de la tuberculina.

### 2.4.1 Prueba de la Tuberculina

Es la prueba oficial en campo según la NOM 031-ZOO-1995 y es la prueba prescrita para el comercio internacional, para la campaña contra la tuberculosis bovina en México. Es el método utilizado de forma masiva en las campañas contra la tuberculosis debido a características tales como: su alta sensibilidad, una especificidad aceptable (en la prueba doble comparativa; cuello del bovino, *M. bovis* vs *M. paratuberculosis*), la rapidez de la prueba con el fin de eliminar animales excretores, y su bajo costo, en comparación a otros métodos diagnósticos para la detección de otras infecciones bacterianas.[8]

La prueba se basa en la respuesta inmunológica del animal a la inyección intradérmica de 0,1 ml de tuberculina en la dermis del pliegue caudal (prueba del pliegue caudal) con un extracto proteínico purificado (PPD) de *M. bovis*. La reacción en el animal infectado es una inflamación local, causado por una reacción de hipersensibilidad retardada, de 48-72 horas después de la inyección. [4]

Una inflamación igual o mayor a 5 mm se considera como una reacción positiva (animal PPD o tuberculina positiva). Aunque cualquier respuesta a dicha prueba se considera como un animal rector.

La prueba de la tuberculina intradérmica comparativa se utiliza para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* y los que respondieron a la tuberculina bovina como resultado de la exposición a otras micobacterias. Esta sensibilización se puede atribuir a la reactividad cruzada antigénica entre especies de micobacterias y géneros relacionados. La prueba consiste en la

inyección intradérmica de tuberculina bovina y tuberculina aviar en diferentes sitios, por lo general en el mismo lado del cuello, y medir la respuesta 3 días más tarde.

#### **2.4.2 Examen macroscópico post-mortem**

Es el método diagnóstico utilizado a nivel rastro, y comprende la visualización, palpación e incisión de órganos y tejidos que lo requieran para localizar las anomalías que impidan la comercialización y el consumo de ese alimento.

Este examen macroscópico se realiza por Médicos Veterinarios y Zootecnistas certificados por SAGARPA para la campaña nacional contra la Tuberculosis Bovina en México, establecido en la NOM 031-ZOO-1995.

El análisis se centra en la inspección de aquellas zonas y órganos más afectados por las lesiones tuberculosas: cavidad torácica, y ganglios linfáticos retrofaríngeos. Aunque también el curso de la infección puede afectar otros órganos y ganglios en cualquier parte del cuerpo. Según la NOM 031-ZOO-1995, la canal que tenga lesiones sugestivas a la infección por esta micobacteria, debe ser decomisada en forma parcial o total según la ubicación y la amplitud de las lesiones; las cuales puede variar entre tamaños de 1mm a 50-60 cm de diámetro, por lo que un examen macroscópico en el rastro no es una herramienta diagnóstica infalible.[22]

#### **2.4.3 Aislamiento bacteriológico**

El cultivo microbiológico, es la técnica por excelencia (de oro) ante la sospecha de un animal positivo a TB. Pero *M.bovis* presenta bastantes dificultades para su aislamiento, debido a que esta micobacteria casi no está presente (escasa) en las lesiones; también requiere de medios de cultivo especiales, su

crecimiento en ellos es muy lento (4-6 semanas) y la presencia de otros microorganismos afecta al mismo.[4, 22]

El aislamiento bacteriológico es de importancia en las campañas de erradicación y deber ser practicado en muestras de animales reactivos a la prueba de tuberculina, y/o que presenten lesiones sugestivas a TB, para así confirmar la posible infección con *M. bovis*.

#### **2.4.4 Histopatología**

Mediante un análisis histopatológico se intenta visualizar la lesión granulomatosa característica de la infección por micobacterias, se realiza generalmente en los tejidos, órganos o nódulos linfáticos que al examen macroscópico presentaban lesiones sospechosas. Es un análisis rápido y sencillo, que permite una aproximación bastante exacta al estado infeccioso del animal con respecto a la enfermedad. Estas muestras obtenidas en el rastro son fijadas en formol a 10% y sometidas a un proceso de deshidratación, aclaración e inclusión para ser preparada para los cortes histopatológicos, con el colorante hematoxilina-eosina y el método Ziehl-Neelsen. Con el método de Ziehl-Neelsen modificado para tejidos, se pueden observar los bacilos ácido-alcohol resistentes en el citoplasma de las células. [23]

#### **2.4.5 Pruebas complementarias**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha evaluado ampliamente para la detección del complejo de *M. tuberculosis* en muestras clínicas de pacientes humanos (principalmente esputos) y recientemente se ha utilizado para el diagnóstico de la tuberculosis en animales. [24]

Para la detección del complejo de *M. tuberculosis* en tejidos frescos y fijados se



han evaluado varios preparados disponibles comercialmente y diversos procedimientos "caseros". Se han utilizado varios cebadores, incluyendo los que amplifican secuencias del ARNr 16S-23S, de las secuencias de inserción IS6110 e IS1081, y de los genes que codifican las proteínas específicas del complejo de M. tuberculosis, como la MPB 70 y el antígeno b de 38 kDa. Se han analizado los productos amplificados por hibridación con sondas o por electroforesis en gel.[25]

La fiabilidad de esta prueba se ha reducido por los resultados falsos positivos y negativos, sobre todo en muestras con un número bajo de bacilos. Se ha atribuido la variabilidad de los resultados a un bajo número de copias de la secuencia amplificada junto al bajo número de bacilos. También se cree que es debida a los métodos de descontaminación, a los procedimientos de extracción del ADN, a las técnicas para eliminar los inhibidores de la polimerasa, a controles internos y externos, y a los procedimientos seguidos para evitar contaminaciones cruzadas.

La mejora en la fiabilidad de la PCR como prueba práctica de detección del complejo de M. tuberculosis necesita el desarrollo de procedimientos sólidos y estandarizados. [5]

#### **2.4.6 NOM 031-ZOO-1995**

**2.4.6.1** Para efectos de Campaña, el diagnóstico de la tuberculosis se llevará a cabo por medio de:

- a)** Tuberculinización;
- b)** Análisis bacteriológico e histopatológico, y
- c)** Otros que determine la Secretaría.

##### **2.4.6.1.1** Las pruebas de tuberculinización autorizadas por la Secretaría

y que serán aplicadas por Médicos Veterinarios aprobados en tuberculosis bovina y/o personal oficial aprobado, son:

- a)** Prueba en el pliegue caudal
- b)** Prueba cervical comparativa
- c)** Prueba cervical simple

**2.4.6.1.2.** Las tuberculinas autorizadas para efectos de Campaña son:

- a)** PPD bovino: elaborado con *Mycobacterium bovis* cepa AN5, que se utilizará en la prueba caudal, cervical comparativa y cervical simple.
- b)** PPD aviar: elaborado con *Mycobacterium avium* cepa D4, que será utilizada en la prueba cervical comparativa.

La tuberculina de PPD aviar debe contener como colorante el rojo de Ponceau, para distinguirla de la de PPD bovino que no lleva colorante.

- c)** Las tuberculinas deben ser transportadas y conservadas en frío a una temperatura de 4 a 8°C y protegidas de la luz solar directa durante el trabajo de campo, debe verificarse el lote y fecha de caducidad del producto. Una vez utilizado el antígeno, deberá desecharse el resto del contenido del envase si no se va a utilizar el mismo día.

**2.4.6.1.3.** El instrumental necesario para la realización de la tuberculinización se ajustará a las siguientes especificaciones:

- a)** Se utilizarán jeringas graduadas de 1 ml con graduación de 0.1 ml, de preferencia desechables, automáticas o en caso contrario limpias, esterilizadas y en buen estado.
- b)** Las agujas serán hipodérmicas, calibre 24 a 26 de 0.5 a 1.0 cm de largo, de preferencia desechables o en caso contrario limpias, esterilizadas y en buen estado.
- c)** Para la prueba cervical comparativa se usará un cutímetro metálico o de plástico como el vernier o pie de rey, graduado en mm.

**2.4.6.1.4.** Para la aplicación de cualquiera de las pruebas, éstas deben

realizarse de forma única y durante la inoculación en las 72 horas siguientes, no efectuarse otro tipo de manejos, como son el herrado, desparasitado, vacunación y otros, con el fin de no afectar los resultados.

#### **2.4.6.2. Prueba caudal.**

Es la prueba básica operativa de rutina, cuando se desconoce la situación zoonosanitaria del hato en materia de tuberculosis; en estos casos deberá ser aplicada por un Médico Veterinario aprobado o cuando la Secretaría lo determine será realizada por un Médico Veterinario oficial.

Los bovinos sujetos a esta prueba deberán ser identificados con el Arete Oficial de la Campaña; o bien, con el arete azul en caso de que sean destinados para la exportación, se deberá anotar en la hoja de control de campo los datos correspondientes al propietario, localización del predio, lote de la tuberculina, fecha de caducidad, así como la descripción individualizada de los animales y los resultados obtenidos.

Las técnicas de manejo para la aplicación de tuberculina en el pliegue caudal consistirán en:

- a)** Inmovilización del animal.
- b)** Limpieza de la zona donde se aplicará el biológico. Además deberá efectuarse un minucioso examen de ambos pliegues, anotando cualquier irregularidad que pueda confundirse con la prueba.
- c)** Insertar la aguja en toda su longitud intradérmicamente, haciendo un ángulo de 45°, aplicando 0.1 ml del biológico. En el sitio de la aplicación aparecerá un pequeño abultamiento.

La interpretación de la prueba caudal se ajustará a lo siguiente:

La lectura se hará por el mismo Médico Veterinario que efectuó la prueba, mediante la observación y palpación del sitio donde se practicó la inoculación, realizándose a las 72 horas ( $\pm$  6 horas) posteriores a la aplicación del biológico,

el médico verificará que se trata de los mismos animales inoculados.

Las reacciones se clasifican como:

Negativa: Cuando no se observe ni se palpe ningún cambio en la piel del sitio de aplicación.

Reactor: Cuando sea visible y/o palpable cualquier engrosamiento, rubor, calor, dolor o necrosis en el sitio de aplicación.

#### **2.4.6.3. Prueba Cervical Comparativa.**

Esta es la única prueba autorizada para confirmar o descartar animales reactores a la prueba de pliegue caudal. Se podrá efectuar por única vez dentro de los 10 días naturales siguientes a la lectura de la prueba caudal; o bien, después de transcurridos 60 días naturales, debiéndose aplicar por un Médico Veterinario oficial o aprobado, se aplica en hatos o regiones con presencia de *M. paratuberculosis* y/o *M. avium*.

Esta prueba no debe ser utilizada en hatos cuando el diagnóstico se haya obtenido por el aislamiento de *M. bovis* de las muestras de los animales sacrificados.

Para la aplicación de la tuberculina en la prueba cervical comparativa, se tomarán en cuenta las siguientes prácticas:

Previo a la realización de la prueba, el Médico Veterinario deberá contar con la documentación de las pruebas anteriores para verificar la entrada o salida de animales del hato.

Rasurar el área donde se inoculará la tuberculina en el tercio medio superior del cuello. El sitio de aplicación superior será cerca de 10 cm debajo de la cresta, el sitio inferior será aproximadamente de 13 cm debajo de la anterior, esta prueba

se aplica mediante la inoculación intradérmica de 0.1 ml de PPD aviar y 0.1 ml de PPD bovino. Previo a la inoculación, se levanta un pliegue de piel en el centro de las áreas rasuradas y se procederá a medir el grosor de estos, utilizando el cutímetro. El registro final de las medidas deberá redondearse según el siguiente criterio: de 6.2 baja a 6.0, 6.3 sube a 6.5; de 6.7 baja a 6.5; de 6.8 sube a 7; debiendo registrarse los valores en los formatos para prueba cervical comparativa.

El PPD aviar se inyecta intradérmicamente en el área rasurada superior y el PPD bovino en la inferior. La lectura de esta prueba se realizará 72 horas ( $\pm 6$  horas), midiendo con el cutímetro el grosor de las reacciones, éstas serán anotadas en el formato oficial de la prueba cervical comparativa, sustrayendo el valor de la primera lectura al de la segunda; una vez realizada esta operación se procede a graficar los valores obtenidos tanto de PPD aviar como del bovino y el punto de intersección dará el resultado de la prueba. De acuerdo a la gráfica oficial se interpretarán los resultados.

#### **2.4.6.4. Prueba cervical simple.**

Esta prueba se empleará para probar hatos en los que se conoce la existencia de *M. bovis*; o bien, para probar ganado que estuvo expuesto directa o indirectamente con hatos infectados con *M. bovis*.

**2.4.6.4.1.** Se debe rasurar el área donde se inyectará la tuberculina en el tercio medio superior del cuello. El sitio de aplicación será aproximadamente 10 cm debajo de la cresta. Esta prueba se aplica mediante la inoculación intradérmica de 0.1 ml de PPD bovino en la región media cervical, haciendo la lectura el mismo Médico Veterinario que aplicó la prueba mediante la observación y palpación del sitio en donde se practicó, realizándose a las  $72 \pm 6$  horas posteriores a su inoculación.

Las reacciones se clasifican como:

Negativa: Cuando no se observe ni se palpe ningún cambio en la piel del sitio de aplicación.

Reactor: Cuando sea visible y/o palpable cualquier engrosamiento, rubor, calor, dolor o necrosis en el sitio de aplicación.

**2.4.6.4.2.** En especies diferentes al bovino, animales de espectáculo, exhibición y fauna silvestre, la Secretaría determinará el antígeno diagnóstico, sitio de aplicación y criterio de interpretación de acuerdo a los 'resultados de la investigación científica a nivel mundial.

#### **2.4.6.5.** Toma de muestras.

La toma de muestras para estudios histopatológico y bacteriológico se realizará de la siguiente forma:

Se seleccionarán y tomarán muestras de los siguientes órganos que presenten lesiones compatibles con tuberculosis o secreciones sugestivas:

**a)** Nódulos linfáticos. Tomando muestras preferentemente de los nódulos de la cabeza, preescapulares, mediastínicos anteriores y posteriores y bronquiales derecho e izquierdo. En el caso de tuberculosis miliar tomar muestras de nódulos mesentéricos.

**b)** Pulmones. La lesión tuberculosa puede ser caseosa o calcificada o una cavidad franca. De este órgano se tomarán muestras de 2 cm por lado de las lesiones presentes.

**c)** Útero en caso de metritis tuberculosa. Se caracteriza por secreción continua de grandes cantidades de pus amarilla teniendo el aspecto de leche cuajada. Se tomarán las muestras del órgano y de este exudado.

**d)** Otros órganos. También se tomarán muestras de los siguientes órganos cuando presenten lesiones sugestivas de tuberculosis: bazo, hígado, riñón,

médula ósea, ovarios, testículos y glándula mamaria.

Si el animal es positivo a la prueba de tuberculina y en la necropsia no presenta cambios que sugieran la infección del animal, entonces se deberán enviar al laboratorio: nódulos de la cabeza como los retrofaríngeos, mandibulares, parotídeos y las tonsilas faríngeas, así como los mediastínicos y mesentéricos.

Todas las muestras deberán estar perfectamente identificadas, anotando:

- Nombre del propietario.
- Ubicación de la explotación de origen.
- Dónde se obtuvo la muestra.
- Órgano.
- Descripción del animal: especie, raza, sexo y edad.
- Identificación precisa del animal como arete, marca, u otro.
- Nombre, registro y domicilio del Médico Veterinario oficial o aprobado que remite la muestra.
- Destino del canal y vísceras, ya sea decomiso parcial o total.

**2.4.6.5.1.** En el laboratorio las muestras serán sometidas a las pruebas de diagnóstico bacteriológico o histopatológico.

#### **2.4.6.5.1.1.** Diagnóstico bacteriológico.

**a)** Examen directo: Mediante la tinción de Ziehl Neelsen o de nueva fucsina para microorganismos ácido alcohol resistentes en frotis realizados con el material sospechoso. En caso de ser una muestra positiva, con esta tinción se observarán bacilos teñidos de color rojo.

Puede utilizarse la microscopia de fluorescencia mediante la tinción con auramina-rodamina, auramina acridina o auramina fenol, que tiñe a la bacteria de color verde brillante.

**b)** Examen indirecto: Cultivo, aislamiento e identificación del *Mycobacterium*, a través de la siembra de material sospechoso en medios especiales como Herrolds con y sin huevo, Middle Brook y Stonebrink, Petragnani, ATS y Lowenstein Jensen.

#### **2.4.6.5.1.2. Diagnóstico histopatológico**

Se deberá utilizar la tinción de hematoxilina-eosina. Esta técnica permite identificar cualquier cambio morfológico de los tejidos, así como la presencia de los granulomas.

Además pueden utilizarse las tinciones de Ziehl Neelsen y nueva fucsina en cortes o improntas realizados con el material sospechoso.

#### **2.4.6.5.2. Forma de envío de muestras para el aislamiento bacteriológico.**

Es necesario sumergir los tejidos en solución saturada de borato de sodio, si se trata de nódulos aparentemente afectados se deberán enviar completos sin grasa; si se trata de otro tejido, se deberá seleccionar la posible lesión y enviar muestras no mayores de 2 cm por lado.

El tiempo máximo en que debe permanecer el tejido en la solución de borato de sodio es de 10 semanas, si el tiempo es mayor la muestra se deshidrata.

#### **2.4.6.5.3. Forma de envío de muestras para estudio histopatológico.**

Las muestras con lesiones sugestivas a tuberculosis deberán fijarse con formol amortiguado al 10%, el tamaño de las mismas deberá ser de aproximadamente de 2 cm por lado y en una proporción de una parte de tejido y nueve de fijador (formol).



## **2.5 TB en México**

Antes de 1992, la Campaña contra la tuberculosis bovina en México, estaba enfocada principalmente en la realización de pruebas de tuberculina para obtener hatos libres y para exportar becerros a los Estados Unidos de América.

Los estados fronterizos fueron los primeros en iniciar en 1992, un esquema de pruebas en todos los hatos para detectar la enfermedad, aplicar cuarentenas y sacrificar a los animales reactores. Posteriormente se inició la vigilancia en rastros, con la cual se detectaron casos en animales de matanza regular y, con ello, nuevos hatos infectados.

En 1993, se creó un Comité Binacional México-Estados Unidos para la erradicación de la tuberculosis bovina al que posteriormente se le agregó el tema de Brucelosis. Se iniciaron, entonces, visitas de revisión a los estados mexicanos para evaluar su programa de erradicación de tuberculosis y, en su caso, permitirles o no la exportación de becerros.

En 1994, se publicó de forma emergente, la primera Norma Oficial Mexicana contra la tuberculosis bovina.

Asimismo, en 1996, se publicó la Norma Oficial Mexicana que regula la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina, la cual se modificó en 1998 y es la que actualmente continúa vigente.

Desde 1996 la Campaña se financió con recursos económicos tripartitas procedentes del Gobierno Federal, Estatal y de los Productores.

A partir del reconocimiento de regiones en fase de erradicación en 1994 por la SAGARPA, se establecieron regiones o estados con una prevalencia menor al 2%. (Datos proporcionados por la SENASICA, Dic 2013)

### 2.5.1 Nacional

En 16 años de Campaña, se ha avanzado considerablemente, ya que antes de 1992, la prevalencia de tuberculosis bovina era desconocida y, actualmente, existen 25 regiones o estados clasificados de baja prevalencia en el país.



Imagen 1. Imagen proporcionada en la página de SENASICA, 18/Marzo/2015

### 2.5.2 Internacional

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) ha reconocido 25 regiones de baja prevalencia de tuberculosis bovina, de las cuales 13 regiones pueden exportar con una sola prueba de tuberculina del lote, 11 regiones con prueba de lote y prueba de hato de origen, y una región no requiere pruebas de tuberculina para exportar ganado castrado a los Estados Unidos.

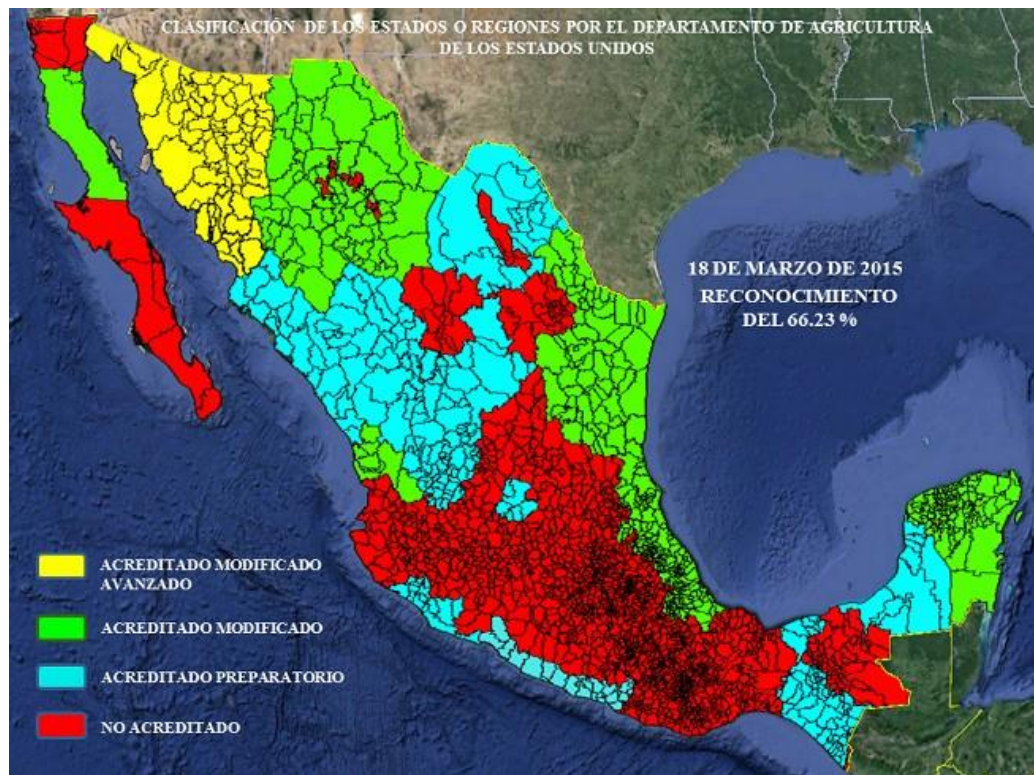


Imagen 2. Imagen proporcionada en la página de SENASICA, 18/Marzo/2015

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Lugar del estudio**

Los datos obtenidos para este estudio se obtuvieron del Laboratorio Central Regional de Monterrey, S.A. de C.V. ubicado en Avenida Benito Juárez Km 4.5, Centro de Guadalupe, Guadalupe, Nuevo León.

#### **3.2 Clasificación de animales**

Según la Norma Oficial Mexicana 031-ZOO-1995 se hace la siguiente clasificación a los animales:

- Animal infectado: es aquel que es considerado portador de *M. bovis* mediante pruebas de campo y/o laboratorio.
- Animal expuesto: es aquel de las especies bovinas que ha tenido contacto con un animal o animales infectados de tuberculosis o reactores a las pruebas de tuberculina.
- Animal reactor: Es el que ha sido sujeto a una o más pruebas diagnósticas oficiales de tuberculosis y cuyos resultados han sido positivos.
- Animal enfermo: Es aquel animal de las especies bovinas del cual se aisló el *M. bovis*.
- Animal negativo: Es aquel animal que ha sido sujeto a una o varias pruebas diagnósticas oficiales de tuberculosis y cuyos resultados han sido negativos.

### **3.3 Clasificación de muestras**

- Sospechosa. Proveniente de animal con lesión sugestiva a TB.
- Expuesto. Proveniente de animal en contacto con animal o animales positivos a TB.
- Matanza regular. Muestra obtenida en rastro, a la hora de la inspección.
- Reactor. Proveniente de un animal positivo a la prueba de tuberculina.
- Desconocido. Se desconoce su procedencia.

### **3.4 Prueba de campo: Tuberculina**

Una técnica de inyección correcta es importante. Los sitios de inyección deben ser recortados y limpiados.

Un pliegue de la piel de cada zona rasurada se mide con un pie y la zona marcada antes de la inyección. Una aguja, con el borde biselado hacia el exterior y una jeringa que contenga tuberculina, graduado, se inserta oblicuamente en las capas más profundas de la piel.

Luego se inyecta la dosis de tuberculina. Una jeringa de dosis múltiples o una pistola de inyección múltiple se pueden utilizar siempre que la entrega del volumen y la seguridad estén aseguradas.

La dosis de tuberculina inyectada debe ser inferior a 2000 unidades internacionales (UI) de tuberculina bovina o aviar. Una inyección correctamente se confirma al palparse una hinchazón de un guisante en cada punto de inyección. La distancia entre las dos inyecciones debe ser de aproximadamente 12-15 cm.

En los animales jóvenes en los que no hay espacio para separar suficientemente los puntos en un lado del cuello, una inyección se debe hacer en cada lado del cuello en puntos idénticos en el centro de la tercera mitad del cuello. El espesor del pliegue de piel de cada punto de inyección se vuelve a medir 72 horas después de la inyección.

La misma persona debe medir la piel antes de la inyección y cuando se lee la prueba.

Una serie de métodos alternativos para la interpretación de las pruebas cutáneas se han adoptado, reconociendo que las reacciones de falsos positivos

pueden ser causados por sensibilización por otras micobacterias y por la inflamación local.

La interpretación se basa en la observación y los incrementos registrados en el espesor del pliegue de piel. En la prueba intradérmica única (que requiere una sola inyección de tuberculina bovina), la reacción se considera comúnmente para ser negativo si se observa una hinchazón limitada, con un aumento de no más de 2 mm y sin signos clínicos, tales como difusa o extensa edema, exudación, la necrosis, dolor o inflamación de los conductos linfáticos de esa región o de los ganglios linfáticos.

La reacción se considera que es dudosa si se observa ninguno de estos signos clínicos y si el aumento en el grosor del pliegue de piel es más de 2 mm y menos de 4 mm.

La reacción se considera positiva si los signos clínicos, como se mencionó anteriormente, se observan o si hay un aumento de 4 mm o más del grosor de la piel.

Por otra parte, con *M. bovis* cualquier inflamación palpable o visible debe ser considerada como positiva. A veces se utiliza una interpretación más estricta, sobre todo en una población de alto riesgo o en contacto animales.

Los animales que son concluyentes por la prueba intradérmica sencilla deben ser sometidos a otro examen después de un intervalo de 42 días para permitir la desensibilización a decaer (en algunas zonas se utilizan 60 días para el ganado bovino).

Los animales que no son negativos a esta segunda prueba, deberán ser considerados como positivos a la prueba. Los animales que son positivos a la prueba intradérmica sencilla pueden ser sometidos a una prueba intradérmica

comparativa.

Cualquier nueva prueba se debe realizar de acuerdo con el estándar de los programas de control local o nacional.

En la interpretación de la prueba comparativa intradérmica, una reacción por lo general se considera positiva si el aumento de grosor de la piel en el sitio de la inyección bovina es más de 4 mm mayor que la reacción mostrada en el sitio de la inyección aviar.

La reacción se considera que es dudosa si el aumento de grosor de la piel en el sitio de la inyección bovina es de 1 a 4 mm mayor que la reacción aviar.

La reacción se considera negativa si el aumento de grosor de la piel en el sitio de la inyección bovina es menor que o igual que el aumento en la reacción de la piel en el sitio de la inyección aviar.

En el pliegue caudal de prueba, una aguja, con el borde biselado hacia el exterior, se inserta oblicuamente en las capas más profundas de la piel en la cara lateral del pliegue caudal, a medio camino a lo largo del pliegue y la mitad de camino entre la línea del cabello y la cara ventral de la doblar.

La interpretación estándar es que se considera cualquier cambio palpable o visible para ser una reacción. Una interpretación es modificado también en el uso: una prueba positiva es cualquier inflamación palpable o visible en el sitio de la inyección que tiene un pliegue caudal diferencia de espesor de 4 mm en comparación con el espesor del pliegue caudal opuesto. Si un animal tiene un solo pliegue caudal, se considera que es positivo si el espesor del pliegue caudal es de 8 mm o más.



### 3.5 Aislamiento bacteriológico

El diagnóstico de tuberculosis en el laboratorio se realiza por el método bacteriológico que se basa en el aislamiento e identificación del agente causal mediante pruebas bioquímicas.

#### 3.5.1 Materiales

- Pipeteador manual.
- Tijeras.
- Pinzas con y sin dientes de ratón.
- Guantes de látex.
- Lentes de seguridad.
- Portaobjetos de 2 mm X 75mm.
- Mortero y pistilo.
- Frascos color ámbar con gotero.
- Matraz Erlenmeyer varias medidas.
- Pissetas.
- Probetas de varias medidas.
- Vasos de precipitado de varias medidas.
- Tubos de ensaye de 16 X 100.
- Hisopos estériles de 15 cm aprox.
- Asas bacteriológicas.
- Gasas.
- Agitadores de vidrio.
- Sedaso.
- Cofias.
- Algodón.
- Tubos cónicos para centrífuga con tapón de 15 ml.
- Tubos cónicos para centrífuga con tapón de 50 ml.
- Tubos con tapón de baquelita 16 X '125
- Vasos para licuadora.
- Pipetas Pasteur.
- Tubos con tapón de baquelita 13 X 100
- Termómetro.
- Lupa.
- Gradillas.
- Frascos ámbar con tapón de rosca.
- Lámpara con foco de 50 watts.
- Bulbo de hule pequeño (aspirador).
- Jeringas de 10 ml
- Cubrebocas.
- Papel filtro Whatman No. '1
- Acrodiscos de 0.22 y 0.45  $\mu$ m
- Jeringas 20 ml
- Aluminio.
- Perlas de vidrio.
- Matraces aforados.

### 3.5.2 Reactivos:

- Agua destilada estéril.
- Alcohol etílico absoluto.
- Azul de metileno.
- Fuscina básica.
- Verde brillante.
- Rojo de fenol.
- Fenol.
- Ácido clorhídrico,
- Hidróxido de sodio.
- Borato de sodio.
- Base de medio Lowestein Jensen.
- Fosfato de sodio monobásico.
- Fosfato de sodio dibásico dihidratado. ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- Glicerina bidestilada.
- Verde de malaquita.
- Huevos enteros.
- Piruvato de sodio.
- Fosfato disódico anhidro ( $\text{Na}_2\text{PO}_4$ )
- Peróxido de hidrógeno.
- Tween 80
- Nitrato de sodio.
- Fosfato disódico dodecahidratado.
- Sulfanilamida.
- Clorhidrato de n-naphtilen diamino.
- Bromuro de cianógeno.
- Anilina.
- Fosfato de potasio anhidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).
- Sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ).
- Hipoclorito de Sodio.
- Fenol en cristales
- Bromotimol
- Fenoftaleina.
- Tiras reactivas de análisis de ácido nicotínico
- Medio Stonebrink

### 3.5.3 Tinción de Ziehl-Neelsen

Se utiliza para poder observar bacilos ácido alcohol resistente, este procedimiento tiene dos formas de realizarse, en caliente y en frío. En el laboratorio se utilizan indistintamente cualquiera de las dos.

*Tinción de Ziehl-Neelsen (con calor).*

1. Adicionar solución de fucsina fenicada y calentar hasta que se observe que se desprenden vapores de color blanco por espacio de 5 minutos.

Evitar que el colorante se seque añadiendo el necesario.

2. Lavar el frotis con agua corriente.
3. Decolorar con alcohol-ácido durante 30 segundos.
4. Lavar el frotis con agua corriente.
5. Contrastar con solución de verde brillante y/o azul de metileno por 3 minutos.
6. Lavar el frotis con agua corriente.
7. Dejar secar.
8. Observar al microscopio con objetivo de inmersión (Bacilos de color rojo).

#### *Tinción de Ziehl-Neelsen (con frío).*

1. Fijar el frotis con calor.
2. En un vaso de tinción con solución fucsina se deja por espacio de 25 minutos.
3. Lavar el frotis con agua corriente.
4. Colocar el frotis en alcohol-ácido por un minuto.
5. Lavar el frotis con agua corriente.
6. En un vaso de tinción con solución de verde brillante y/o azul de metileno por 5 minutos.
7. Lavar el frotis con agua corriente y dejar secar.
8. Observar al microscopio con objetivo de inmersión (Bacilos de color rojo).

#### **3.5.4 Preparación del huevo.**

Los huevos deben ser frescos (no más de 5 días), se limpian cuidadosamente con un fibra cepillo, agua y jabón, se dejan pocos minutos en agua jabonosa. Se enjuagan con agua corriente, se dejan secar y limpian con una gasa embebida en alcohol etílico absoluto.

Utilizando el equipo de seguridad (guantes, lentes y cubrebocas), quebrar los huevos evitando tocar el borde de la fractura, uno a uno en un vaso de precipitado estéril.

Observar cada huevo, que para ser utilizado debe tener yema firme, que permanezca redonda, sin aplastarse ni romperse. Homogeneizar durante algunos segundos. Todo el material debe estar estéril, filtrar el huevo con un colador.

### **3.5.5 Medios de cultivo**

A. Medio de Lowenstein-Jensen (DIFCO).

• Medio de Lowenstein base	37.2 l
• Glicerina	12.0 ml
• Agua destilada	600.0 ml
• Huevo fresco	1000 ml
• Verde de malaquita a 12% recién preparada	20 ml

a. Suspenda 37.2 g del medio en 600 ml de agua destilada, añadir 12 ml de glicerina y caliente agitando constantemente, deje hervir por un minuto hasta que se disuelva.

b. Esterilice a 121-124 °C por 15 minutos.

c. Deje enfriar a 45-60 °C.

d. Agregar enseguida 20 ml de la solución acuosa de verde de malaquita al 2% recién preparada y filtrada con un filtro de poro 0.45 o 0.22 µm.

e. Posteriormente agregar el litro de la suspensión de huevos frescos asépticamente.

f. Mezcle bien y dispense en tubos estériles con tapón de rosca.

g. Distribuir el medio en tubos, en condiciones de esterilidad, con ayuda de una jeringa de 10 ml nueva. La cantidad de medio en cada tubo (7 ml aprox.) debe ser la suficiente para obtener, una vez coagulado el medio, un plano inclinado. Para ello es conveniente tener un tubo patrón marcado al nivel correspondiente.

h. Coagule a 85 °C por 25 minutos.

i. Terminado el tiempo de coagulación, retirar los tubos evitando su enfriamiento brusco. Una vez a temperatura ambiente llevarla a la estufa de cultivo a 37 °C dejándolos durante 48 horas para controlar su esterilidad y eliminar el agua de condensación: los tapones deben quedar ligeramente flojos. Se guardan los tubos en refrigeración ajustando bien los tapones para evitar la desecación. Se recomienda no usar el medio después de dos meses de su preparación.

#### B. Medio de Stonebrink.

La composición del medio es la siguiente:

• Fosfato monopotásico anhidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	7.0 g
• Fosfato disódico dihidratado ( $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	4.0 g
• Piruvato de sodio	12.5 g
• Agua destilada.	1000 ml
• Verde de malaquita al 2% recién preparada	40 ml
• Huevos enteros	2000 ml

\*Se puede sustituir por 8 g de fosfato disódico con 12 moléculas de agua ( $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ).

- a. Disolver las sales completamente y esterilizar en autoclave durante '15 minutos a 15 lbs (121 °C) y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- b. Agregar enseguida 40 ml de la solución acuosa de verde de malaquita al 2% recién preparada y filtrada con un filtro de poro 0.45 o 0.22  $\mu\text{m}$ .
- c. Después de enfriar se agregan los 2,000 ml de la suspensión de huevos frescos asépticamente. Mezcle bien y dispense en tubos estériles con tapón de rosca.
- d. El medio se distribuye en los tubos de ensayo en cantidad de 7 ml de medio por tubo, se colocan dentro del coagulador y se dejan a 75 °C durante 55 minutos.
- e. Se siguen las mismas indicaciones y recomendaciones que se dieron en la preparación del medio de Lowenstein-Jensen.

#### C. Recomendaciones.

- Limpieza de los tubos: antes de envasar el medio los tubos deben de estar bien limpios. No basta que estén estériles, porque los restos del medio ya usado alteran la calidad del nuevo medio.
- Alcalinidad de los tubos: Esto influye desfavorablemente y por ello hay que asegurarse que sean de vidrio neutro. Es frecuente observar tubos alcalinizados (el medio adquiere un color blanco amarillento en la parte que está en contacto con el tubo), debido a que se lavan con detergentes que tienen muy alta concentración de sosa. Para evitarlo es necesario enjuagarlos en una solución al 1% de HCL y por lo menos dos veces en agua destilada.
- Mezclar bien agitando manualmente el matraz y luego dejar reposar

para que las burbujas de aire contenidas en el medio asciendan a la superficie y se eliminen.

- Al distribuir, evitar la formación de burbujas dejando escurrir el medio de cultivo por la pared interna del tubo. Colocar en el coagulador los tubos evitando girarlos. Con esta precaución se evitará que el medio de cultivo opaque la pared del tubo, lo que facilitará la observación de las colonias.
- El coagulador debe tener una temperatura de 85 °C. El tiempo de coagulación deberá contarse a partir del momento en que la temperatura interna del equipo alcance los 85 °C.
- Estado del coagulador: cualquiera que sea el tipo de coagulador que se use, debe mantener en su interior una temperatura uniforme de 85 °C. En algunas ocasiones los coaguladores tienen una temperatura más alta cerca de sus paredes y los tubos de los extremos sufren sobrecalentamiento.
- Calidad de los huevos: Los huevos deben ser frescos, no refrigerados, sin antibióticos y no más de cinco días de su postura.
- Calidad de las sales y glicerina: Deben emplearse solo productos de grado analítico o para uso bacteriológico.

#### D. Control de sensibilidad.

Un medio de cultivo siguiendo correctamente las instrucciones, tendrá sensibilidad aceptable, pero puede haber variaciones entre uno y otro lote o en medios preparados en laboratorios diferentes.

Se enviarán algunos lotes para control de calidad al laboratorio de referencia CENASA. Para ello se tomará una muestra representativa de 10 tubos al azar.

### 3.5.6 Soluciones

#### 3.5.6.1 Solución de hipoclorito de sodio (dilución 1:1000)

- Hipoclorito de sodio (cloro comercial S.so/o) 72 ml
- Agua potable 3928 ml

#### 3.5.6.2 Solución de borato de sodio 6% (saturada)

- Borato de sodio 6 g
- Agua destilada 100 ml

Preparación.- Disolver el borato en placa de calentamiento, calentado ligeramente hasta su disolución completa, añadir el volumen faltante de agua bidestilada. Dejar enfriar y vaciar en frascos estériles de vidrio. Cada frasco del kit contiene 50 ml de borato de sodio 6%

#### 3.5.6.3 Solución de ácido clorhídrico 10%

- Ácido clorhídrico concentrado 100 ml
- Agua destilada 900 ml

Preparación.- En un matraz de aforación colocar 800 ml. De agua destilada, añadir lentamente los 100 ml de ácido clorhídrico y aforar a 1000 ml con agua destilada. Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.

#### 3.5.6.4 Solución de Hidróxido de sodio 2 N.

- Hidróxido de sodio 80 g
- Agua destilada 1000 ml

Preparación.- En un matraz de aforación colocar 500 ml de agua destilada,



disolver el hidróxido de sodio y aforar a 1000 ml con agua destilada. Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.

#### **3.5.6.5 Solución de Hidróxido de sodio 10%.**

- |                      |        |
|----------------------|--------|
| • Hidróxido de sodio | 10 g   |
| • Agua destilada     | 100 ml |

#### **3.5.6.6 Solución de rojo de fenol.**

- |                          |       |
|--------------------------|-------|
| • Rojo de fenol          | 1.0 g |
| • Hidróxido de sodio 10% | 10 ml |
| • Agua destilada         | 90 ml |

Preparación.- A 10 ml de hidróxido de sodio al 10% se le añade el rojo de fenol, posteriormente añade el agua destilada. Esterilizar a 121 °C por 15 minutos.

#### **3.5.6.7 Solución de fucsina fenicada (solución A).**

- |                            |        |
|----------------------------|--------|
| • Fucsina básica           | 10 g   |
| • Alcohol etílico absoluto | 100 ml |

#### **Solución de fenol 5% (solución B)**

- |                  |        |
|------------------|--------|
| • Fenol          | 5 g    |
| • Agua destilada | 100 ml |

Preparación.- Solución de trabajo. Mezclar 10 ml de la solución A en 100 ml de la solución B.

#### **3.5.6.8 Solución de alcohol ácido.**

- |                            |       |
|----------------------------|-------|
| • Ácido clorhídrico conc.  | 3 ml  |
| • Alcohol etílico absoluto | 97 ml |

#### **3.5.6.9 Solución de verde brillante 1% (contraste).**

- Verde brillante 1 g
- Hidróxido de sodio 0.01 g
- Agua destilada 100 ml

Preparación.- Disolver el hidróxido de sodio en el agua destilada y añadir el verde brillante, se filtra (Whatman No.1), se deja madurar por una semana.

#### **3.5.6.10 Solución de azul de metileno de Loeffler (contraste)**

- Azul de metileno 0.3 g
- Agua destilada 100 ml

Preparación.- Disolver el colorante, se filtra (Whatman No. 1), se deja madurar por una semana. Como solución de contraste en la tinción de Ziehl-Neelsen puede utilizarse indistintamente cualquiera de estas dos soluciones.

### **3.5.7 Equipos e instrumentos**

- Campana de seguridad tipo III.
- Microscopio óptico.
- Incubadora bacteriológica.
- Refrigerador.
- Congelador.
- Pipeteador automático.
- Autoclave.
- Centrífuga de seguridad biológica.
- Incinerador.
- Baño de Agua.
- Platina de calentamiento.
- Balanza semianalítica.
- Balanza granataria.
- Máscara de bioseguridad.
- Licuadora.
- Micropipeta de 100 a 1000  $\mu$ l
- Termo coagulador.
- Potenciómetro.
- Mechero de alcohol.

### **3.5.8 Tratamiento de la muestra**

#### *Características de la muestra*

Las muestras que llegan para el diagnóstico de TB, debe contar con las siguientes características:

1. Debe ser suficiente cantidad de muestra para trabajar y guardar una réplica  $\geq 2 \text{ cm}^3$ .
2. Deben contener la mínima cantidad de grasa, en un frasco de 120 ml (4 onzas) en una solución de borato de sodio al 6% para el estudio bacteriológico, es importante que las muestras tengan lesiones de tipo granulomatoso.
3. Al llegar la muestra, procederá dentro de la campana de seguridad, para quitar la solución de borato, ésta se lava con una solución de hipoclorito de sodio para eliminar el exceso de solución de borato; posteriormente se refrigera o congela hasta el momento de trabajarla.

### **3.5.9 Procedimiento**

#### **3.5.9.1 Preparación de la muestra**

1. En el laboratorio las muestras se reciben en una solución de borato de sodio al 6%. Dentro de la campana de seguridad retirar la solución de borato, lavada con una solución de hipoclorito de sodio, para después refrigerarla o congelarla hasta su proceso no más de 7 días.
2. Se etiquetan dos tubos con el número de caso y la fecha. Uno cónico para centrifuga de 50 ml o tubo para muestra de trabajo y el otro con capacidad de 15 ml o tubo para réplica de muestra, ésta se congela y deberá permanecer en custodia por un lapso de dos años antes de ser desechada.

3. Encender la campana de seguridad de 15 a 20 minutos antes de empezar a trabajar para estabilizar la presión de la campana, ésta será como mínimo de 0.75 pulgadas de presión. Se recomienda poner dentro de ella solo lo necesario para el procesamiento de las muestras como lo son:

- Morteros y pistilos y/o licuadora y vasos para licuadora estériles (según el número de muestras a trabajar).
- Tijeras.
- Pinzas con dientes de ratón.
- Agua destilada estéril.
- Ácido clorhídrico al 10% estéril.
- Hidróxido de sodio 2 N estéril.
- Recipiente con fenol al 5%.
- Gotero con rojo de fenol 1%
- Gasas.
- Solución de hipoclorito de sodio.
- Muestras a trabajar.
- Encendedor.
- Mechero de alcohol.

4. Dentro de la campana de seguridad se abre el frasco conteniendo la muestra y se decanta la solución de borato de sodio en un recipiente que contenga una solución de fenol al 5%, se hace un lavado de la muestra con la solución de hipoclorito de sodio para retirar los restos de la solución de borato.

5. Con la ayuda de las tijeras y pinzas, se quita la grasa y tejido conectivo de la muestra a procesar. Si la lesión es muy grande o tiene mucho exudado, se elige una parte interna y una parte externa de la lesión; cuando la muestra es muy pequeña se incluye toda. En caso de no haber lesiones visibles, se selecciona una porción representativa de la muestra. En mortero, la muestra es cortada en

trozos pequeños y se macera. En licuadora el tiempo de macerado será de 1 a 2 minutos.

#### **3.5.9.2 Descontaminación de muestra mediante una variante ácido-alcalina del Método de Petroff**

1. Se macera la muestra en el mortero o en licuadora de 1 a 2 minutos con ayuda de un poco de agua destilada estéril. Se coloca una parte de este macerado en el tubo identificado como réplica, que será congelado. En el tubo de centrífuga de 50 ml se colocan aproximadamente 5 ml del macerado y se agregan 5 partes de ácido clorhídrico al 10%.
2. Se añaden de 2 a 3 gotas, o las que sea necesario, de rojo de fenol al 1% hasta que la muestra tome un color naranja, se agita y se deja reposar por 20 minutos.
3. Pasado este tiempo, se añade hidróxido de sodio 2 N gota a gota agitando el tubo hasta que la muestra vire de un color morado a lila.
4. Para remover los tubos de la campana de seguridad, póngalos en la caja hermética de la campana de seguridad y aspérjelos con la solución de fenol al 5%. Deje reposar por 15 o 20 minutos antes de retirarlos.
5. Las muestras se centrifugan a 3000 rpm durante 20 minutos, éstas se vuelven a meter en la campana de seguridad para realizar la siembra.

#### **3.5.9.3 Siembra**

1. Se desecha el sobrenadante de los tubos en un recipiente con fenol al 5%. Con ayuda de un hisopo estéril o asa bacteriológica se toma del sedimento de

la muestra y se siembra en un tubo de Lowenstein Jensen, dos tubos con medio de Stonebrink.

2. Incubar a 37 °C los tubos sembrados con los tapones flojos y en posición inclinada el primer día para que el sedimento seque sobre toda la superficie del medio, y en posición vertical después del segundo día. Los tubos se revisan semanalmente durante 9 semanas haciendo las anotaciones pertinentes.

3. En casos de contaminación de todos los tubos, se deben desechar y se debe procesar la muestra congelada (réplica). Ésta a su vez se divide en dos tubos. Se guarda uno en congelación y el otro se procesa para la nueva siembra como ya fue descrito. Si hubiera crecimiento en la primera semana, se considera contaminación.

#### **3.5.9.4 Baciloscopia**

Del sedimento con el que se realiza la siembra, se hace un frotis y se fija a calor para efectuar la tinción de Ziehl-Neelsen.

#### **3.5.9.5 Tipificación de bacterias**

Al salir un aislamiento positivo, se tiene que resembrar para efectuar su identificación. Dependiendo del medio en el cual se logró el aislamiento, se resiembran 3 tubos con el mismo tipo de medios; uno se incuba a 45 °C y los 2 restantes se incuban a 37 °C; uno se cubre con papel aluminio para observar el crecimiento en la oscuridad.

Estos cultivos son monitoreados semanalmente y al mes se efectúan las pruebas bioquímicas. Al tubo incubado a 37 °C en oscuridad, se le aplica luz

directa con una lámpara durante 1 h para observar si hubo cambio de color en las colonias ya que algunas micobacterias atípicas producen este cambio. Después se selecciona el medio con mayor número de colonias para efectuar las siguientes pruebas bioquímicas.

\*Las pruebas para la tipificación bacteriana deben de realizarse en la campana de seguridad.

### *Pruebas bioquímicas:*

#### **Prueba de Nitratos**

##### **A. Fundamento:**

Algunas bacterias utilizan el nitrato como fuente de nitrógeno reemplazando a las sales de amonio; esta característica varía cuantitativamente en las diferentes micobacterias.

##### **B. Reactivos:**

Substrato: Nitrato de sodio M/ 100 en amortiguador de fosfatos M/ 45 pH 7.0

- |   |         |
|---|---------|
| • Nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ )  | 0.17 g  |
| • Fosfato de potasio anhidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )                     | 0.234 g |
| • Fosfato trisódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ) | 0.97 g  |
| • Agua destilada  | 200 ml  |

1. Colocar en frasco ámbar y guardar en refrigeración. El reactivo no debe tener más de 20 días de preparado.

2. Preparar 40 ml de HCl al 50%: A 20 ml de agua destilada agregar 20 ml de



HCl concentrado.

3. Sulfanilamida al 0.2%: Pesar 0.1 g de sulfanilamida y disolver en 50 ml de agua destilada. Colocar en frasco ámbar y conservar en refrigeración.

4. Clorhidrato de n-naphtilen diamino al 0.1%.

#### C. Método

- Colocar de 2 a 3 gotas de agua estéril en tubos con tapón de rosca.
- Introducir una asada de bacilos en cada tubo y homogeneizarlos bien.
- Agregarle 2 ml de sustrato e incubar por dos horas a 37 °C.
- Agregarle 2 gotas de HCl al 50% y agitar vigorosamente.
- Agregarle 4 gotas de sulfonamida al 0.2%.
- Agregar 4 gotas de clorhidrato de n-naphtilen diamino al 0.1% y agitar.

#### D. Interpretación de resultados

Una coloración roja nos indica que la prueba es positiva, el color puede variar desde un color rosa pálido hasta un color rojo intenso.

Nota: Se debe comparar el tubo con el testigo negativo. Cepas de más de 60 días, los nitratos no dan.

#### *Controles de calidad:*

- Positivo: *M. tuberculosis*.
- Negativo: solo reactivos.

## Prueba de Catalasa

### A. Fundamento.

Las micobacterias excepto las mutantes, *M. izoniasida* resistentes de *M. tuberculosis* y *M. gasfri* sintetizan la catalasa.

En *M. tuberculosis* y en *M. bovis* catalasa positiva, la enzima, es termolábil, en las micobacterias atípicas la enzima es termoestable.

### B. Reactivos: Solución amortiguadora de fosfatos M / 15 pH 7.0

- Solución A: Fosfato disódico M /15. Pesar 0.947 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  anhidro, disolver en 100 ml de agua destilada.
- Solución B: Fosfato monopotásico M/15 0.907 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , disolver en 100 ml de agua destilada. Mezclar 61.1 ml de la solución A en 38.9 ml de la solución B y ajustar a pH 7.0.
- Prepara  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% en frasco ámbar y conservar en refrigeración (100 ml).
- Solución acuosa de Tween 80 al 10%. Calentar ligeramente el agua para alcanzar mayor disolución, conservar en refrigeración (100 ml).

### C. Método:

1. Colocar tubos de ensayo con tapón de rosca 2 ml de solución Buffer de fosfatos a pH 7.0 (2 tubos para cada cepa).
2. Agregar una azada de colonias a cada tubo.
3. Uno de los tubos se coloca a baño maría a 68 °C por 20 minutos, después secar y dejar enfriar.
4. El otro tubo se deja a temperatura ambiente.
5. Mezclar 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30% con 5 ml de solución de Tween 80 al 10% y agregarle a cada tubo 0.5 ml de esta mezcla.

### D. Interpretación de resultados

Una formación de burbujas indica una reacción positiva (+).

La ausencia de burbujas se considera como una reacción negativa (-).

Presencia de burbujas muy lenta se considera como sospechosa (+ -).

### *Controles de calidad*

- Positivo: *M. tuberculosis* a temperatura ambiente pero negativos a 68 °C.
- Negativo: solo los reactivos.

Nota: Las micobacterias atípicas dan positivo la reacción a 68 °C ya que la enzima que sintetizan es termoestable. Algunas cepas de *M. bovis* son negativas o débilmente positivas. Las que sintetizan catalasa son negativas a 68 °C.

## **Prueba de Niacina**

### A. Fundamento

#### Prueba con Bromuro de Cianuro

Algunas bacterias liberan al medio de cultivo ácido nicotínico, que al reaccionar con el bromuro de cianógeno y anilina producen una coloración amarilla.

#### Prueba con tiras de análisis de ácido nicotínico

Las tiras de análisis de ácido nicotínico son tiras de papel que contienen reactivos para la detección de ácido nicotínico por micobacterias produciendo una coloración amarilla.

En el laboratorio se utiliza indistintamente cualquiera de estos métodos.

## B. Reactivos

- Bromuro de cianógeno al 10%: 90 ml de agua destilada estéril se le agregan 10 g de bromuro de cianógeno. Se guarda en refrigeración en frasco ámbar.
- Anilina al 4%: disolver 4 ml de anilina en 96 ml de alcohol etílico absoluto. Guardar en refrigeración en frasco ámbar.
- Tiras de análisis de ácido nicotínico impregnadas con tiocianato potásico, cloramina T, ácido cítrico y aminosalicilato de sodio.

## C. Método

1. Picar con un asa bacteriológica el medio de cultivo primario.
2. Añadir al cultivo 1.5 ml de agua estéril, dejar en reposo los tubos inclinados por 20 minutos.
3. Retirar con cuidado el agua en un tubo de tapón de rosca con una pipeta Pasteur.
4. Utilizando unas pinzas estériles introducir una tira de análisis de ácido nicotínico con la flecha orientada hacia abajo en cada tubo (control positivo, control negativo y cultivo de análisis) y taparlos de inmediato.
5. Agitar los tubos con suavidad para mezclar el líquido con el reactivo en la base de la tira cada 5 minutos (no inclinarlos) por 15 minutos.
6. Se utiliza para la prueba con tiras de ácido nicotínico

Nota: La prueba debe efectuarse con suma precaución, en la campana de seguridad.

## D. Interpretación de resultados:

Si el líquido cambia a color amarillo la prueba se considera como positiva.

Si no hay un cambio de color la prueba se considera como negativa.

#### *Controles de calidad*

- Positivo: *M tuberculosis* y/o control de niacina
- Negativo: solo reactivos.

### **3.5.10 Control de calidad**

Cepas de referencia. Se utilizan cuando se prepara un lote nuevo de medios y se incluyen en el procesamiento de las muestras.

#### *Procedimiento de resiembra de cepas de referencia*

- Éstas se resembrarán cada 3 meses y por triplicado, constatando con pruebas bioquímicas que sus propiedades bioquímicas no se han modificado.
- Del tubo original se resiembra por triplicado cada uno de las cepas de referencia, en el caso de *M. bovis* y se resiembra en medio Stonebrink, para *M. tuberculosis* se efectúa en Lowenstein-Jensen y para micobacterias atípicas en los medios de Stonebrink y Lowenstein-Jensen se siembran 3 tubos con el mismo tipo de medios, cada uno de los cuales se incuba a 37 °C.
- Éstos son monitoreados semanalmente y a la cuarta semana se efectúan las pruebas bioquímicas, para verificar que sus propiedades no se han modificado, y su morfología sigue estable.
- Una vez cerciorado que sigue viable, éstas se guardan en refrigeración y son utilizadas hasta por tres meses.

### *Control de registros*

- F-388 Hoja de Trabajo de Aislamiento de *M.bovis*.
- F-148 Tipificación de micobacterias.
- PD-32 Seguimiento de Aislamiento micobacterias.

### *Procedimientos en áreas de trabajo.*

1. La campana de seguridad debe tener una presión mínima negativa de 0.75 pulg. Los materiales que han sido transferidos de la campana de seguridad deberán ser descontaminados con un desinfectante apropiado y removerlos al final de la cámara de transferencia de 15 a 20 minutos antes de sacarlos de la campana de seguridad.
2. Los desechos y material utilizado en la campana se deberán sacar en bolsas selladas y esterilizarlos en la autoclave del área.
- 3 Las pipetas solo deberán ser usadas con un bulbo de seguridad. Nunca deberán ser usadas con la boca. Todas las pipetas utilizadas deberán ser sumergidas en un desinfectante apropiado. Las pipetas contaminadas se esterilizarán a 121 °C por 60 minutos al igual que todo el material utilizado.
4. La licuadora debe ser usada solamente dentro de la campana de seguridad. Estos dispositivos pueden producir considerables aerosoles que pueden ser muy peligrosos si son usados fuera de la campana de seguridad.
- 5 Los tubos de cultivo y las cajas de Petri que contengan cultivos viables solo podrán ser abiertos dentro de la campana de seguridad.
6. Si hubiera crecimiento en la primera semana, se considera contaminación.

7. Procedimiento de bioseguridad y seguridad general en el área de trabajo de micobacterias.

Procedimientos basados en:

NOM-031-ZOO- 1995; NOM-056-200-1995; Manual de procedimientos de laboratorio Indre/Sagar; Diagnóstico bioquímico de Micobacterias.

### **3.6 Análisis Histopatológico**

#### **3.6.1 Procesamientos de los tejidos**

Las muestras remitidas previamente fijadas, deben cortarse con un grosor máximo de 2 a 5 mm, ser identificadas y colocarlas en las cápsulas de inclusión. Una vez encapsuladas, éstas deberán pasar a un lavado previo con agua corriente por aproximadamente 5 -10 minutos, una vez enjuagadas se colocan en el histoquinette, donde recibirán deshidratación, clarificación e impregnación con parafina durante 12 horas.

##### **3.6.1.1 Reactivos contenidos en el histoquinette (12 vasos).**

Formalina amortiguada	30 min
Alcohol etílico al 70%	60 min
Alcohol etílico al 80%	60 min
Alcohol etílico al 95%	60 min
Alcohol etílico al 95%	60 min
Alcohol etílico al 100%	60 min
Alcohol etílico al 100%	60 min
Alcohol etílico al 100%	60 min
Xilol	60 min
Xilol	60 min
Xilol	60 min
Parafina temperatura de 60 °C	60 min
Parafina temperatura de 60 °C	60 min
Parafina temperatura de 60 °C	60 min



### 3.6.1.2 Inclusión en parafina

Una vez que las muestras han pasado por el proceso de deshidratación, clarificación e impregnación en el histoquinete, éstas se colocarán en el molde de inclusión, siendo orientadas adecuadamente para el corte, posteriormente se coloca el anillo sobre el molde, una vez que embonen deberá ser llenado dicho anillo con parafina aproximadamente a 56 °C, se identifica y se deja en la crioconsola para su solidificación cumpliendo esto, se despegua el molde del anillo y se deja enfriar el cubo para su corte.

### 3.6.1.3 Proceso de corte y recolección

El cubo que contiene tejido, es colocado en el microtomo para orientarlo y cortarlo a un grosor aproximadamente de 4 a 6 micras, el corte se toma con un pincel y se deposita en la laminilla agregando una gota de alcohol al 70% en el cual tiene un efecto extensor (opcional), posteriormente el tejido es colocado en un baño maría con gelatina a una temperatura de 40-45 °C para tener una mayor extensión, el tejido en flotación seleccionado es tomado con un portaobjetos dejando escurrir el exceso de agua, para que posteriormente se deje secar al aire libre y se identifique correctamente, después se introduce en una incubadora entre 45-55 °C durante 20 minutos (opcional).

	<i>Hematoxilina y eosina N° de laminillas</i>	<i>Ziehl-Neelsen N° de laminillas</i>
<i>Muestras sin lesión</i>	1	1
<i>Muestras con lesión</i>	1	3

\*Laminillas con dos cortes en cada una

Nota: en caso de que el órgano presente un aumento en su tamaño y sin lesión alguna se procederá a realizar dos laminillas, una se teñirá con Hematoxilina y eosina y la otra con Ziehl-Neelsen.

En caso de no observar el bacilo ácido-alcohol resistente en la lesión granulomatosa en la primera serie de laminillas se procederá a realizar cinco laminillas con dos cortes cada una y se teñirá únicamente con Ziehl-Neelsen.

### 3.6.2 Procedimiento de tinciones

#### 3.6.2.1 Tinción de Hematoxilina y eosina

##### *Hematoxilina de Harris*

• Hematoxilina	5 g
• Alcohol etílico absoluto	50 ml
• Sulfato de aluminio/amonio ó sulfato de aluminio/potasio	100 g
• Agua destilada	1000 ml
• Óxido de mercurio rojo	2.5 g

En un matraz de 2000 ml disolver el sulfato de aluminio en el agua destilada con la ayuda de calor tratando de llegar al punto de ebullición. En un matraz pequeño disuelva la hematoxilina en el alcohol y mezclar las dos soluciones, agitando firmemente se acerca la mezcla de nuevo al calor y llevarlo al punto de ebullición rápido aproximadamente un minuto, retirar y lentamente agregar el óxido de mercurio, regresar la solución al calor hasta que aparezca un color púrpura oscuro, retirar del calor y colocar el matraz en un recipiente con agua fría. Agregar 20 ml de ácido acético glacial para intensificar la tinción nuclear. Filtrar siempre antes de cada uso.

##### *Eosina*

##### Solución (Madre) de Eosina

• Eosina amarillenta soluble	1 g
• Agua destilada	20 ml
• Alcohol absoluto	80 ml

#### Solución de trabajo de eosina

- Solución madre de Eosina 25 ml
- Alcohol etílico al 80% 75 ml
- Ácido acético glacial 0.5 ml

#### Solución de alcohol-ácido al 1%

- Ácido clorhídrico 1 ml
- Alcohol etílico al 70% 99 ml

#### Solución de agua amoniacal

- Hidróxido de amonio al 28% 2-4 ml
- Agua destilada 800-1000 ml

#### *Procedimiento de tinción*

- 1.- Xilol 10 min
- 2.- Alcohol etílico 100% 5 min
- 3.- Alcohol etílico 96% 5 min
- 4.- Alcohol etílico 80% 5 min
- 5.- Alcohol etílico 70% 5 min
- 6.- Alcohol etílico 50% 5 min
- 7.- Lavar en agua corriente
- 8.- Hematoxilina de Harris 5 min
- 9.- Lavar en agua corriente
- 10.- Clarificar con alcohol ácido
- 11.- Lavar en agua corriente
- 12.- Virar con agua amoniacal o carbonato de litio
- 13.- Eosina 1-2 min
- 14.- Alcohol etílico 96% 5 min
- 15.- Alcohol etílico 96% 5 min
- 16.- Alcohol etílico absoluto 5 min

17.- Alcohol-Xilol 50%	5 min
18.- Xilol	10 min
19.- Xilol	10 min

#### *Montaje*

Una vez teñida la muestra, se procede a montarla para su posterior observación, para ello se le pone un poco de xilol cubriendo el área de la muestra, posteriormente se coloca una gota de resina sintética, inmediatamente después se coloca el cubre objetos y se deja secar como mínimo de 3 a 6 horas. Lo más recomendable es que se deje secar toda la noche.

#### **3.6.2.1.1 Resultados**

- Núcleos: Azules
- Citoplasma: Rosa a rojo
- Otros elementos titulares: Rosa o rojo

#### **3.6.2.2 Tinción de Ziehl-Neelsen**

##### Solución Carbol-Fuscina para Ziehl-Neelsen

- |                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| • Cristales de fenol derretidos | 5ml   |
| • Alcohol etílico absoluto      | 10ml  |
| • Fascina básica                | 1g    |
| • Agua destilada                | 100ml |

En un matraz de 500 ml, se pone a calentar el agua destilada hasta llegar al punto de ebullición, retirar el calor y agregar inmediatamente la fuscina básica lentamente, se agita firmemente y se le agrega el alcohol y el fenol ya derretido, se agita constantemente hasta verificar que la fuscina esté totalmente disuelta, dejar y filtrar.

Solución de alcohol-ácido al 1%

- Ácido clorhídrico 1ml
- Alcohol etílico 70% 99 ml

Solución de Azul de Metileno (madre)

- Azul de metileno 1.4 g
- Alcohol etílico 95% 100 ml

Solución de trabajo de Azul de Metileno

- Azul de metilo (madre) 10 ml
- Agua destilada 90 ml

*Procedimiento de tinción*

- 1.- Xilol 15 min
- 2.- Xilol 15 min
- 3.- Alcohol etílico 100% 5 min
- 4.- Alcohol etílico 96% 5 min
- 5.- Alcohol etílico 80% 5 min
- 6.- Alcohol etílico 70% 5 min
- 7.- Alcohol etílico 50% 5 min
- 8.- Lavar en agua corriente.
- 9.- Solución carbol-fusina 30 min
- 10.- Lavar en agua corriente 4 min
- 11.- Decolorar con el alcohol-ácido
- 12.- Lavar en agua corriente 4 min
- 13.- Contrastar con la solución de azul de Metileno 1 min
- 14.- Lavar con agua corriente
- 15.- Alcohol etílico 96% 5 min
- 16.- Alcohol etílico 96% 5 min

17.- Alcohol etílico 100%	5 min
18.- Alcohol-Xilol (50/50)	5 min
19.- Xilol	10 min
20.- Xilol	15 min

### *Montaje*

Una vez teñida la muestra, se procede a montarla para su posterior observación, para ello se le pone un poco de xilol cubriendo el área de la muestra, posteriormente se coloca una gota de resina sintética, inmediatamente después se coloca el cubre objetos y se deja secar como mínimo de 3 a 6 horas. Lo más recomendable es que se deje secar toda la noche.

#### **3.6.2.2.1 Interpretación de resultados**

- Bacilos ácido alcohol resistente: rojo brillante
- Eritrocitos: amarillo-naranja
- Otros elementos titulares: azul pálido

Compatible con TB: observación de la lesión granulomatosa con la presencia de bacilo ácido alcohol resistente.

Negativo a TB: ausencia de la lesión granulomatosa, así como del bacilo ácido resistente.

Sugestivo: observación de la lesión granulomatosa sin la observación de los bacilos ácido alcohol resistentes.

### **3.6.3 Control de calidad**

Histopatología: tejidos positivos de referencia. La frecuencia con que se utilizan estos controles es cada vez que se va a observar al microscopio y cuando se preparan los colorantes para tinción.

Procedimientos basados en:

NOM-031-ZOO-1995. Campaña nacional contra la tuberculosis bovina.

NOM-056-ZOO-1995. Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

Métodos Histotecnológicos. Edna B. Prophet, Bob Mills, Jacquelyn B. Arrington, Leslie H. Sobin, M.D.

### 3.7 Pruebas complementarias

#### 3.7.1 Reacción de PCR punto final

Reactivos para el PCR punto final:

Reactivo	<i>Taq</i> Gold	<i>Taq</i> Roche
H <sub>2</sub> O	12.25	13.25
Buffer	2.5	2.5
MgCl <sub>2</sub>	1	N.A.
dNTP's	2	2
4104a / M1	1	1
4104b / M2	1	1
<i>Taq polimerasa</i>	0.25	0.25
ADN	5	5
Vol. Total	25	25

**\*\***Volumen de las reacciones son en (μl).

*Programa del Termociclador.*

Temperatura °C	Tiempo	No. ciclos
94	10 min	1
94	45 seg	50
72	2 min:15 seg	
72	10 min	1
10	Tiempo indefinido	

Como control positivo de la reacción de PCR se utiliza ADN de cepa de *M. tuberculosis* o cepa de *M. bovis*.



### *Electroforesis en gel de agarosa*

Para visualizar los resultados de la reacción de PCR se realiza una electroforesis en gel de agarosa.

Preparar un gel de agarosa al 1.5%. Mezclar 50 ml de buffer SB 1X con 0.75 g de agarosa grado biología molecular. Calentar en el microondas aproximadamente durante 1 min con 30 segundos, dejar enfriar durante 5 minutos. Vaciar en un vidrio de tamaño adecuado según la cantidad de muestras a analizar, colocar el peine para formar los pocillos, evitando derramar la agarosa, y dejar polimerizar aproximadamente durante 5 minutos.

Colocar el gel con el vidrio dentro de la cámara de electroforesis conteniendo SB 1X.

En un papel parafilm colocar 2  $\mu$ l de Halt (Buffer de carga) por cada muestra, tomando en cuenta el marcador de peso molecular.

Tomar de cada tubo de PCR de 4 a 8  $\mu$ l y mezclar con el Halt hasta homogenizar y depositar en el orificio del gel de agarosa.

\*Repetir este paso hasta terminar con la última muestra, tomando en cuenta el marcador de peso molecular.

Dejar correr la electroforesis aproximadamente de 30 a 40 min a con un voltaje de 100 V a 300 V.

Al terminar la corrida del gel, sumergir en bromuro de etidio ( $1 \times 10^{-3}$  mg/ml) por 3 minutos para teñir.

Observar en el transiluminador.

**\*\*NOTA:** Se espera ver en el gel de agarosa una amplificación de 138 pares de bases con los iniciadores 4104a y 4104b, y una amplificación de 123 pares de bases con los iniciadores M1 y M2, la cual es considerada como una muestra positiva.

### 3.7.2 PCR en tiempo real para el complejo *M. tuberculosis*.

Alternativamente se puede realizar una reacción de PCR en tiempo real como se describe a continuación:

Reactivo	1 Reacción ( $\mu$ l)
SyBr Green Master mix	10
Agua estéril	3.8
M1	0.6
M2	0.6
ADN	5
Volumen total	20

*Programa en el termociclador de tiempo real.*

Temperatura °C	Tiempo	No. ciclos
95	10 min	1
95	15 seg	50
66	1 min	
95	15 seg	1
60	30 seg	
95	15 seg	

### *Interpretación de los resultados PCR tiempo real.*

Se puede observar como las curvas que pasan el umbral, y presentan un Ct (ciclo umbral) menor a 45 se consideran positivas indicando que la región IS6110 se encuentra presente. Las curvas que se encuentran por debajo de este umbral y presenten un Ct mayor a 45 son consideradas negativas. También se verifica que la TM del control positivo y de la muestra que sea considerada como positiva no tenga una variación de  $\pm 1.5$  °C. Además se analiza la curva de disociación la cual se basa en la aplicación de un gradiente de temperaturas creciente después de la PCR para monitorizar la cinética de disociación de los fragmentos amplificados. Las curvas que se presentan indican los controles positivos de la reacción y cualquier muestra que este dentro del rango de amplificación del control será considerado como positivo al complejo *M. tuberculosis*.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Resultados 2011

En el año 2011, se remitieron 1, 485 muestras al Laboratorio Central Regional de Monterrey, de las cuales 29 muestras no se tienen resultados al aislamiento bacteriológico y 2 no hubo suficiente muestra para correr el mismo estudio. Dando un total de 1,454 muestras que se consideraron para analizar resultados.

En resultados generales del número total de muestras un 4.26% fueron positivas a TB y un 95.73% negativos a dicha enfermedad (Tabla 1).

En dicho año, 24 estados de la República Mexicana, fueron los que enviaron muestras al LCRM, por cuestiones de confidencialidad, no se revelaron los nombres de los mismos, se les asignó una letra para cada estado.

En la tabla 2 se muestra la lista de estados y cuantas muestras enviaron en dicho año y su clasificación de acuerdo a sus resultados. Positivos aquellos que hubo una concordancia en ambas pruebas de laboratorio (HT y AB), negativos (cualquiera de las posibles combinaciones) y aquellas muestras sugestivas a TB (sin tomar en cuenta los resultados en AB). Se tomaron en cuenta aquellas muestras cuyos resultados en AB estaban ausentes o faltaba muestra.

Donde un 4.17% son muestras con concordancia a TB, 94.74% a resultados negativos a TB y un 1.07% aquellas cuyos resultados fueron sugestivos en HT.

Tabla 1. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2011.

Año	Positivos	%	Negativos	%
2011	62	4.26	1, 392	95.73

\*Tomando en cuenta que 29 muestras fueron omitidas en este conteo general debido a que no había resultado, y otras 2 muestras en las que había ausencia de muestra para AB.

Tabla 2. Resultado de muestras conforme a los 24 estados que remitieron muestras al LCRM

ESTADO	POSITIVO	NEGATIVO	SUGESTIVO	TOTAL DE MUESTRAS
A	3	191	1	195
B	7	65	-	72
D	5	122	7	134
E	2	271	3	276
F	7	241	1	249
G	6	102	-	108
H	-	7	-	7
I	15	85	-	100
J	-	22	-	22
K	-	7	-	7
L	14	141	4	159
M	-	15	-	15
N	-	29	-	29
O	-	8	-	8
Q	-	4	-	4
R	1	2	-	3
S	-	11	-	11
T	-	7	-	7
U	-	8	-	8
W	-	5	-	5
V	-	1	-	1
P	2	32	-	34
S/D	-	2	-	2
C	-	29	-	29
TOTALES	62	1407	16	1485
%	4.17%	94.74%	1.07%	100%

\*Tomando en cuenta muestras sin resultados, cuya procedencia se desconoce, y a las que les faltó muestra.

De las muestras sugestivas TB en histopatología, según su clasificación de muestra el 37.5% correspondieron a desconocido, un 56.25% a matanza regular, y el restante, 6.25%, a reactor. Un total de 16 muestras sugestivas a TB, 13 fueron negativas en el aislamiento y 3 positivas al mismo. Solo a dos de las 16 muestras se les corrió PCR, (prueba complementaria ante la NOM), ambos con resultados negativos.

Tabla 3. Muestras sugestivas a TB y sus resultados en aislamiento bacteriológico. 2011

Clasificación de muestra	Sugestivo a TB/ Negativo en Aislamiento	Sugestivo a TB/ Positivo en Aislamiento	#Total de muestras
Desconocido	6	-	6
Matanza Regular	7 <sup>1</sup>	2 <sup>2</sup>	9
Reactor	-	1	1
TOTALES	13	3	16

<sup>1</sup> A una muestra se corrió PCR punto final, resultado negativo.

<sup>2</sup> A una muestra se corrió PCR punto final, resultado negativo.

Se clasificaron las muestras de acorde a la NOM 031-ZOO-1995, en desconocido, expuesto, matanza regular, reactor y expuesto. Se separaron por cada estado y los resultados se ordenaron por tablas, de acuerdo a dicha clasificación y sus resultados ante las pruebas de laboratorio (Tablas 4-27).

Tablas 4-27. Clasificación de muestras conforme a los estados que enviaron muestras al LCRM.

Tabla 4.

ESTADO A			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	2	112
	Compatible / Positivo	3	
	Negativo / Negativo	93	
	Negativo / Positivo	12	
	Negativo / S/D	1	
	Sugestivo / Negativo	1	
EXPUESTO	Positivo / Negativo	1	24
	Negativo / Negativo	22	
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	29
	Negativo / Negativo	28	
REACTOR	Compatible / Negativo	1	29
	Negativo / Negativo	25	
	Negativo / Positivo	3	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			195

Tabla 5.

ESTADO B			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	10	10
EXPUESTO	Compatible / Negativo	4	16
	Compatible / Positivo	6	
	Positivo / S/M	1	
	Negativo / Negativo	4	
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	3	37
	Compatible / S/M	1	
	Negativo / Negativo	31	
	Negativo / Positivo	1	
	Negativo / S/D	1	
REACTOR	Compatible / Positivo	1	9
	Negativo / Negativo	7	
	Negativo / S/D	1	
TOTALES			72

Tabla 6.

ESTADO D			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	13
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	11	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	4	4
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo <sup>1</sup>	3	97
	Compatible / Positivo	3	
	Compatible / S/D	1	
	Negativo / Negativo	68	
	Negativo / Positivo	13	
	Negativo / S/D	2	
	Sugestivo / Negativo <sup>2</sup>	5	
	Sugestivo / Positivo <sup>3</sup>	2	
REACTOR	Compatible / Negativo	1	9
	Negativo / Negativo	7	
	Negativo / S/D	1	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	2	11
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	8	
TOTALES			134

Tabla 7.

ESTADO E			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	3	195
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	178	
	Negativo / Positivo	7	
	Negativo / S/D	3	
	Sugestivo / Negativo	3	
EXPUESTO	Compatible / S/D	1	10
	Negativo / Negativo	9	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	23
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	20	
	Negativo / S/D	1	
REACTOR	Negativo / Negativo	41	45
	Negativo / Positivo	2	
	Negativo / S/D	2	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	1	3
	Negativo / S/D	2	
TOTALES			276



Tabla 8.

ESTADO F			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Positivo	1	7
	Negativo / Negativo	5	
	Negativo / Positivo	1	
EXPUESTO	Compatible / Negativo	1	5
	Negativo / Negativo	4	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo <sup>1</sup>	2	218
	Compatible / Positivo <sup>2</sup>	5	
	Negativo / Negativo	198	
	Negativo / Positivo	5	
	Negativo / S/D	7	
	Sugestivo / negativo	1	
REACTOR	Compatible / Negativo <sup>3</sup>	4	18
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	12	
	Negativo / Positivo	1	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			249

Tabla 9.

ESTADO G			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	10	74
	Compatible / Positivo	4	
	Negativo / Negativo	55	
	Negativo / Positivo	2	
	Negativo / S/D	3	
EXPUESTO	Compatible / Negativo	1	3
	Negativo / Negativo	2	
MATANZA REGULAR	Compatible / Positivo	1	5
	Negativo / Negativo	4	
REACTOR	Compatible / Negativo	4	23
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	14	
	Negativo / Positivo	3	
	Negativo / S/D	1	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			108

Tabla 10.

ESTADO H			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	3	4
	Negativo / Positivo	1	
REACTOR	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			7

Tabla 11.

ESTADO I			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	6	51
	Compatible / Positivo	15	
	Negativo / Negativo	27	
	Negativo / Positivo	3	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	21	21
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	6	6
REACTOR	Compatible / Negativo	1	21
	Negativo / Negativo	18	
	Negativo / Positivo	2	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			100

Tabla 12.

ESTADO J			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	9	10
	Negativo / S/M	1	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	4	4
REACTOR	Negativo / Negativo	7	7
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			22

Tabla 13.

ESTADO K			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	7
	Negativo / Negativo	6	
TOTALES			7

Tabla 14.

ESTADO L			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	3	70
	Compatible / Positivo	6	
	Compatible / S/D	1	
	Negativo / Negativo	56	
	Negativo / Positivo	2	
	Sugestivo / Negativo	2	
EXPUESTO	Compatible / Positivo	1	3
	Negativo / Negativo	2	
MATANZA REGULAR	Sugestivo / Negativo	1	1
REACTOR	Compatible / Negativo	4	79
	Compatible / Positivo	5	
	Compatible / S/D	1	
	Negativo / Negativo	61	
	Negativo / Positivo	7	
SOSPECHOSO	Compatible / Positivo	2	6
	Negativo / Negativo	4	
TOTALES			159

Tabla 15.

ESTADO M			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	11	11
REACTOR	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			15

Tabla 16.

ESTADO N			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	7	9
	Negativo / Positivo	2	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	18
	Negativo / Negativo	14	
	Negativo / Positivo	3	
REACTOR	Negativo / Negativo	2	2
TOTALES			29

Tabla 17.

ESTADO O			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	6	8
	Negativo / Positivo	2	
TOTALES			8

Tabla 18.

ESTADO Q			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	2
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	2	2
TOTALES			4

Tabla 19.

ESTADO R			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Positivo	1	2
	Negativo / Negativo	1	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			3

Tabla 20.

ESTADO S			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	10
	Negativo / Negativo	8	
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			11

Tabla 21.

ESTADO T			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	2	2
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	4	5
	Negativo / Positivo	1	
TOTALES			7

Tabla 22.

ESTADO U			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	4	4
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	4	4
TOTALES			8

Tabla 23.

ESTADO W			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	2	2
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			5

Tabla 24.

ESTADO C			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	18	18
REACTOR	Negativo / Negativo	9	10
	Negativo / Positivo	1	
TOTALES			29

Tabla 25.

ESTADO V			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

Tabla 26.

ESTADO P			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	5	21
	Negativo / Negativo	12	
	Negativo / Positivo	4	
REACTOR	Compatible / Negativo	2	13
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	7	
	Negativo / Positivo	2	
TOTALES			34

Tabla 27.

ESTADO S/D			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

De acuerdo a la clasificación de muestra hubo 595 desconocido, expuesto 84, de matanza regular 469, reactor 264 y 26 sospechoso. No se tomaron en cuenta aquellos cuyos resultados son parciales y/o hay ausencia de muestra, para completar su diagnóstico. En las siguientes tablas de contingencias (tabla 28-32) se muestran dichos resultados y sus resultados en las pruebas de laboratorio.

Tabla 28. Clasificación de muestra: Desconocido 2011

Desconocido

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	32	31	63
	NEG	38	494	532
	TOTALES	70	525	595

\* Sin tomar en cuenta 6 muestras sugestivas a TB, pero con resultados negativos en AB.

Tabla 29. Clasificación de muestra: Matanza Regular 2011

Matanza Regular

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	10	12	22
	NEG	23	424	447
	TOTALES	33	436	469

\*Sin tomar en cuenta 9 muestras sugestivas a TB, 2 con resultado positivo en AB y 7 con resultado negativo.

Tabla 30. Clasificación de muestra: Expuesto 2011

Expuesto

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	7	7	14
	NEG	2	68	70
	TOTALES	9	75	84

\*Sin muestras sugestivas a TB.

Tabla 31. Clasificación de muestra: Sospechoso 2011

Sospechoso

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	3	2	5
	NEG	-	21	21
	TOTALES	3	23	26

\*Sin muestras sugestivas a TB.

Tabla 32. Clasificación de muestra: Reactor 2011

Reactor

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	10	17	27
	NEG	21	216	237
	TOTALES	31	233	264

\* Una muestra sugestiva a TB, resultado positivo en AB.

Tomando en cuenta ambas pruebas aprobadas por la Norma Oficial, se obtuvo una sensibilidad del 47.33% y una especificidad del 93.57%, en todas las muestras remitidas al LCRM durante el año 2011 (Tabla 33).

Tabla 33. Resultados totales, incluyendo especificidad y sensibilidad de ambas pruebas aprobadas por la NOM 031-ZOO-1995.

		AB		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
HT	COMPATIBLE	62	69	131
	NEGATIVO	84	1223	1307
	TOTAL	146	1292	1438

Sensibilidad 47.33 %

Especificidad 93.57 %

\*Sin tomar en cuenta muestras con resultados sugestivos, aquellas cuyo resultado se desconoce y ausencia de la misma.



## 4.2 Resultados 2012

En el 2012 el número total de muestras remitidas al LCRM fueron 1, 911 provenientes de 24 estados de la República Mexicana.

Tras ser analizadas por los métodos de diagnósticos oficiales de la NOM 031-ZOO-1995, los datos fueron 113 positivos, teniendo la concordancia: compatibles en histopatología y positivos en el aislamiento bacteriológico; 1, 798 muestras negativas, donde hubo animales positivos al aislamiento pero sin la compatibilidad en histopatología y viceversa (Tabla 34).

Dentro de estas 1, 798 muestras se encuentran los resultados sugestivos a la TB, con un total de 37 muestras; donde 20 muestras fueron negativas al aislamiento bacteriológico y 17 positivas al mismo. La clasificación de las muestras con resultados sugestivos a la TB fueron: 15 desconocido, 5 expuesto, 7 de matanza regular, 8 reactor y 2 sospechoso (Tabla 35).

La sensibilidad y especificidad de ambas pruebas aprobadas por la NOM fue de 59.16% y 4.01%, respectivamente, en el año 2012. Sin incluir aquellas muestras sugestivas a TB, sin importar resultado en aislamiento bacteriológico, y las que hubo falta de muestra para correr dicha prueba. Con un total de 1,862 muestras: 113 con concordancia; 67 positivas a HT, negativas al AB, 78 negativas a HT; positivas al AB; 1,604 negativas para ambas pruebas; 37 sugestivas a TB, y 12 donde faltó muestra para correr la prueba de AB (Tabla 36).

Tabla 34. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2012

Número de muestras	Positivos	%	Negativos	%
1,911	113	5.9	1,798	94,08

\*Dentro de los resultados negativos, están las muestras sugestivas a TB en histopatología.

Tabla 35. Resultados sugestivos a TB en histopatología

Clasificación de muestra	Sugestivo a TB/ Negativo en Aislamiento	Sugestivo a TB/ Positivo en Aislamiento	#Total de muestras
Desconocido	8	7	15
Expuesto	2	3	5
Matanza Regular	5	2	7
Reactor	3	5	8
Sospechoso	2	-	2
TOTALES	20	17	37

\*Una muestra se desconoce de qué estado proviene el animal.

Tabla 36. Resultados totales, incluyendo especificidad y sensibilidad de ambas pruebas aprobadas por la NOM 031-ZOO-1995.

		AB		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
HT	COMPATIBLE	113	78	191
	NEGATIVO	67	1604	1671
	TOTAL	180	1682	1862

Sensibilidad            59.16 %  
Especificidad            4.01 %

\*Sin tomar en cuenta muestras sugestivas a TB, a las que se desconoce sus resultados, y aquellas con falta de muestra.

En el 2012, de los 24 estados de la República Mexicana que enviaron muestras al LCRM para diagnóstico, fue el 5.92% positivas, 92.18% negativas y 1.88% sugestivas, con un total de 1, 906 muestras remitidas; donde no se toman en cuenta 5 muestras de las cuales se desconoce su procedencia (Tabla 37).

Tabla 37. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2012 conforme a los estados

Estado	Positivos	Negativos	Sugestivos	Número de muestras
A	5	50	1	56
B	12	87	2	101
D	4	89	4	97
E	3	168	3	174
F	12	333	4	349
G	11	159	8	178
H	-	3	-	3
I	21	100	5	126
J	-	1	-	1
K	-	7	-	7
L	24	379	2	405
M	8	222	5	235
N	-	7	-	7
O	3	18	-	21
Q	-	2	-	2
R	-	2	-	2
S	-	12	-	12
T	10	86	2	98
U	-	23	-	23
X	-	1	-	1
Y	-	1	-	1
Z	-	3	-	3
AA	-	4	-	4
TOTAL	113	1, 757	36	1, 906
%	5.92%	92.18%	1.88%	100%

\*Nota: Las 5 muestras restantes no tenían el dato de que estado provenían.

En cuanto a la clasificación de las muestras remitidas, se clasificaron de acorde a la NOM en reactor, desconocido, matanza regular, expuesto y sospechoso. Los resultados se desglosaron conforme a los 24 estados (Tablas 38- 62)

Tablas 38-62. Clasificación de muestras conforme a los estados que enviaron muestras al LCRM, 2012.

Tabla 38.

ESTADO A			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	3	48
	Compatible / Positivo <sup>1</sup>	5	
	Negativo / Negativo	35	
	Negativo / Positivo	4	
	Sugestivo / Positivo	1	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	3	3
REACTOR	Negativo / Negativo	5	5
TOTALES			56

<sup>1</sup> PCR punto final a una muestra, resultado negativo.

Tabla 39.

ESTADO B			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	3	3
EXPUESTO	Compatible / Negativo	2	16
	Compatible / Positivo	5	
	Negativo / Negativo	5	
	Negativo / Positivo	2	
	Sugestivo / Positivo	2	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	2	24
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	20	
REACTOR	Compatible / Negativo	2	56
	Compatible / Positivo	5	
	Negativo / Negativo	46	
	Negativo / Positivo <sup>1</sup>	3	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	1	2
	Negativo / Negativo	1	
TOTALES			101

<sup>1</sup> Una de las 3 muestras se corrió PCR punto final con un resultado negativo.

Tabla 40.

ESTADO E			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	146
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	140	
	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Negativo	2	
EXPUESTO	Compatible / Negativo	1	9
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	6	
	Sugestivo / Negativo	1	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	3	3
REACTOR	Negativo / Negativo	14	15
	Negativo / Positivo	1	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			174

Tabla 41.

ESTADO D			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	34
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	31	
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	2	54
	Compatible / Positivo	3	
	Negativo / Negativo	43	
	Negativo / Positivo	3	
	Sugestivo / Negativo	2	
	Sugestivo / Positivo <sup>1</sup>	1	
REACTOR	Negativo / Negativo	1	1
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	5	8
	Negativo / Sin Muestra	2	
	Sugestivo / Negativo <sup>2</sup>	1	
TOTALES			97

<sup>1</sup>PCR punto final, resultado negativo.

<sup>2</sup>PCR punto final, resultado negativo.

Tabla 42.

ESTADO F			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Sin Muestra	3	18
	Negativo / Negativo	8	
	Negativo / Sin Muestra	7	
EXPUESTO	Compatible / Positivo <sup>1</sup>	3	8
	Negativo / Negativo	3	
	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Negativo <sup>2</sup>	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo <sup>3</sup>	2	200
	Compatible / Positivo <sup>4</sup>	1	
	Negativo / Negativo	188	
	Negativo / Positivo	8	
	Sugestivo / Negativo <sup>5</sup>	1	
REACTOR	Compatible / Negativo <sup>6</sup>	8	111
	Compatible / Positivo <sup>7</sup>	8	
	Negativo / Negativo <sup>8</sup>	84	
	Negativo / Positivo <sup>9</sup>	9	
	Sugestivo / Positivo <sup>10</sup>	2	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo <sup>11</sup>	12	12
TOTALES			349

<sup>1</sup> PCR punto final, dos resultados negativos y uno positivo.

<sup>2</sup> PCR punto final, resultado negativo.

<sup>3</sup> PCR punto final a una de las muestras, resultado negativo.

<sup>4</sup> PCR punto final, resultado negativo.

<sup>5</sup> PCR punto final, resultado negativo.

<sup>6</sup> PCR punto final a siete muestras, seis resultados positivos y uno negativo.

<sup>7</sup> PCR punto final a siete muestras, cuatro positivos y tres negativos.

<sup>8</sup> PCR punto final a una muestra, resultado negativo.

<sup>9</sup> PCR punto final a una muestra, resultado negativo.

<sup>10</sup> PCR punto final a una muestra, resultado negativo.

<sup>11</sup> PCR punto final a una muestra, resultado negativo.

Tabla 43.

ESTADO G			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	9	105
	Compatible / Positivo	7	
	Negativo / Negativo	83	
	Negativo / Positivo	3	
	Sugestivo / Negativo	2	
	Sugestivo / Positivo	1	
EXPUESTO	Compatible / Positivo	1	5
	Negativo / Negativo	2	

	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Positivo	2	7
	Negativo / Negativo	5	
REACTOR	Compatible / Negativo	9	54
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	38	
	Negativo / Positivo	2	
	Sugestivo / Negativo	2	
	Sugestivo / Positivo	2	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	7	7
TOTALES			178

Tabla 44.

ESTADO H			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			3

Tabla 45.

ESTADO I			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	5	75
	Compatible / Positivo	21	
	Negativo / Negativo	39	
	Negativo / Positivo	5	
	Sugestivo / Negativo	2	
	Sugestivo / Positivo	3	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	21	21
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	2
	Negativo / Negativo	1	
REACTOR	Compatible / Negativo	5	22
	Negativo / Negativo	17	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	1	6
	Negativo / Negativo	5	
TOTALES			126

Tabla 46.

ESTADO J			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

Tabla 47.

ESTADO K			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	4	4
REACTOR	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			7

Tabla 48.

ESTADO L			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	3	123
	Compatible / Positivo	7	
	Negativo / Negativo	110	
	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Negativo	2	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	12	12
REACTOR	Compatible / Negativo	9	197
	Compatible / Positivo	11	
	Negativo / Negativo	169	
	Negativo / Positivo	8	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	3	73
	Compatible / Positivo	6	
	Negativo / Negativo	60	
	Negativo / Positivo	4	
TOTALES			405

Tabla 49.

ESTADO M			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	4	126
	Compatible / Positivo	5	
	Negativo / Negativo	112	



	Negativo / Positivo	3	
	Sugestivo / Positivo	2	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	8	8
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	46
	Negativo / Negativo	43	
	Sugestivo / Negativo	2	
REACTOR	Compatible / Positivo	3	48
	Negativo / Negativo	43	
	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Positivo	1	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	7	7
TOTALES			235

Tabla 50.

ESTADO N			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	5	5
REACTOR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			7

Tabla 51.

ESTADO O			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	20
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	15	
	Negativo / Positivo	2	
SOSPECHOSO	Compatible / Positivo	1	1
TOTALES			21

Tabla 52.

ESTADO Q			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			2

Tabla 53.

ESTADO R			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	2	2
TOTALES			2

Tabla 54.

ESTADO S			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	12
	Negativo / Negativo	11	
TOTALES			12

Tabla 55.

ESTADO T			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	16
	Negativo / Negativo	14	
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Positivo <sup>1</sup>	9	49
	Negativo / Negativo	36	
	Negativo / Positivo	3	
	Sugestivo / Positivo	1	
REACTOR	Negativo / Negativo	32	32
SOSPECHOSO	Sugestivo / Negativo <sup>2</sup>	1	1
TOTALES			98

<sup>1</sup> De las 9 muestras positivas 2 de ellas se corrió PCR punto final con resultados negativos.

<sup>2</sup> PCR punto final, resultado negativo.

Tabla 56.

ESTADO U			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	23	23
TOTALES			23

Tabla 57.

ESTADO W			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			2

Tabla 58.

ESTADO X			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
MATANZA REGULAR	Compatible / Positivo	1	1
TOTALES			1

Tabla 59.

ESTADO Y			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

Tabla 60.

ESTADO Z			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			3

Tabla 61.

ESTADO AA			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	4	4
TOTALES			4

Tabla 62.

ESTADO DESCONOCIDO			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	4	4
TOTALES			4

De acuerdo a la clasificación de muestra hubo 747 desconocido, expuesto 77, de matanza regular 385, reactor 538 y 99 sospechoso. No se tomaron en cuenta aquellos cuyos resultados son parciales y/o hay ausencia de muestra, para completar su diagnóstico. En las siguientes tablas de contingencias (tablas 63-67) se muestran dichos resultados y sus resultados en las pruebas de laboratorio.

Tablas 63-67. Tablas de contingencia conforme a la clasificación de muestras, 2012.

Tabla 63. Clasificación de muestra: Desconocido 2012

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	51	29	80
	NEG	21	646	667
	TOTALES	72	675	747

\*Sin tomar en cuenta 10 con ausencia de muestra para AB y 15 sugestivas

Tabla 64. Clasificación de muestra: Expuesto 2012

		CULTIVO		TOTALES
		POS	NEG	
HT	POS	10	3	13
	NEG	4	60	64
	TOTALES	14	63	77

\*5 muestras sugestivas, sin considerarse.

Tabla 65. Clasificación de muestra: Matanza regular 2012

Matanza Regular

		CULTIVO		
		POS	NEG	TOTALES
HT	POS	17	8	25
	NEG	14	346	360
	TOTALES	31	354	385

\*Sin tomar en cuenta 7 muestras sugestivas a TB.

Tabla 66. Clasificación de muestra: Reactor 2012

Reactor

		CULTIVO		
		POS	NEG	TOTALES
HT	POS	28	33	61
	NEG	24	453	477
	TOTALES	52	486	538

\*Sin tomar en cuenta 8 muestras sugestivas a TB.

Tabla 67. Clasificación de muestra: Sospechoso 2012

Sospechoso

		CULTIVO		
		POS	NEG	TOTALES
HT	POS	7	5	12
	NEG	4	99	103
	TOTALES	11	104	115

\*Sin tomar en cuenta 2 muestras sugestivas y 2 con ausencia de la misma.

### 4.3 Resultados 2013

Con un total de 2, 140 muestras remitidas al Laboratorio Central Regional de Monterrey de las cuales en el 4.81% existió concordancia entre ambas pruebas (103 positivas), el 94.34% fueron negativos con todas las posibles combinaciones de resultados entre dichas pruebas (2019 muestras), y un .84% fueron muestras sugestivas a TB en histopatología.

Fueron 25 estados de la República Mexicana, los que en el 2013 enviaron muestras al LCRM para su diagnóstico acorde a la NOM 031-ZOO-1995. Eliminando muestras donde se desconoce su procedencia, las muestras sugestivas a TB, y aquellas donde hubo falta de muestra para su correcto análisis (NOM 031-ZOO-1995) fueron 2, 117 muestras remitidas; 103 positivas y 2,014 negativos (Tabla 68).

Tabla 68. Número de muestras positivas y negativas remitidas al LCRM en el 2013

2013	POSITIVOS	%	NEGATIVOS	%	TOTAL
25 estados	103	4.86	2,014	95.13	2, 117

De las 18 muestras sugestivas a TB, las cuales corresponden al .84%, 6 son de origen desconocido (1 positiva y 5 negativas al AB); 1 expuesto (negativo al AB); 7 de matanza regular (negativas al AB, 1 PCR negativo) y 4 reactor (negativos al AB, 1 PCR positivo), dichos resultados se muestran a continuación (tabla 69).

Tabla 69. Resultados sugestivos a TB en histopatología en el 2013.

Clasificación de muestra	Sugestivo a TB/ Negativo en Aislamiento	Sugestivo a TB/ Positivo en Aislamiento	#Total de muestras
Desconocido	5	1	6
Expuesto	1	-	1
Matanza Regular	7	-	7
Reactor	4	-	4
TOTALES	17	1	18

En la tabla 70 se muestra la lista de estados y cuantas muestras enviaron en dicho año y su clasificación de acuerdo a sus resultados. Positivos aquellos que hubo una concordancia en ambas pruebas de laboratorio (HT y AB), negativos (cualquiera de las posibles combinaciones) y aquellas muestras sugestivas a TB (sin tomar en cuenta los resultados en AB). Se tomaron en cuenta aquellas muestras cuyos resultados en AB estaban ausentes o faltaba muestra.

Se categorizó por estado, de acuerdo a la clasificación de la muestra, y sus resultados en las pruebas de laboratorio, tomando en cuenta las sugestivas, y a aquellas a las cuales se corrió alguna prueba complementaria a la NOM (PCR), también a las que se desconoce su procedencia y había ausencia de muestra para correr alguna de las pruebas oficiales (tablas 71-94).

De acuerdo a la clasificación de muestra hubo 472 desconocido, expuesto 117, de matanza regular 724, reactor 619 y 142 sospechoso. No se tomaron en cuenta aquellos cuyos resultados son parciales y/o hay ausencia de muestra, para completar su diagnóstico. En las tablas de contingencias del 2013 (tablas) se muestran dichos resultados y sus resultados en las pruebas de laboratorio.

Tabla 70. Listado de estados en el 2013, que enviaron muestras al LCRM para su diagnóstico.

ESTADO	POSITIVAS	NEGATIVAS	SUGESTIVAS	TOTAL
A	5	76	1	82
B	19	223	-	242
D	2	64	1	67
F	19	264	1	284
G	7	160	5	172
H	-	3	-	3
I	5	15	-	20
J	-	2	-	2
K	-	44	-	44
L	22	585	1	608
M	6	318	5	329
N	1	11	-	12
O	2	28	1	31
Q	-	1	-	1
R	-	1	-	1
S	-	15	-	15
T	15	174	3	192
U	-	11	-	11
V	-	5	-	5
W	-	3	-	3
X	-	4	-	4
Y	-	2	-	2
Z	-	1	-	1
AA	-	4	-	4
AB	-	5	-	5
%	4.81%	94.34%	0.84%	100%
TOTAL	103	2019	18	2140



Tablas 71-95. Clasificación de muestras conforme a los estados que enviaron muestras al LCRM, 2013.

Tabla 71.

ESTADO A			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	5	67
	Compatible / Positivo	3	
	Negativo / Negativo	58	
	Sugestivo / Negativo	1	
EXPUESTO	Compatible / Positivo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	11	11
SOSPECHOSO	Compatible / Positivo	1	2
	Negativo / Negativo	1	
S/D	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			82

Tabla 72.

ESTADO B			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
EXPUESTO	Compatible / Negativo	6	24
	Compatible / Positivo	5	
	Negativo / Negativo	13	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo <sup>1</sup>	5	34
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	28	
REACTOR	Compatible / Negativo <sup>2</sup>	44	182
	Compatible / Positivo	12	
	Negativo / Negativo	126	
SOSPECHOSO	Compatible / Positivo	1	2
	Negativo / Negativo	1	
TOTALES			242

Tabla 73.

ESTADO D			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	2	2
EXPUESTO	Negativo / Negativo	1	1
REACTOR	Compatible / Negativo <sup>1</sup>	4	6

	Compatible / Positivo <sup>2</sup>	2	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	36	37
	Sugestivo / Negativo <sup>3</sup>	1	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo <sup>4</sup>	1	9
	Negativo / Negativo	8	
S/D	Negativo / Negativo	11	12
	Negativo / Positivo	1	
TOTALES			67

<sup>1</sup>PCR a 4 muestras; 2 negativas y 2 positivas.

<sup>2</sup>PCR a 2 muestras, resultados negativos.

<sup>3</sup>PCR, resultado negativo.

<sup>4</sup>PCR, resultado negativo.

Tabla 74.

ESTADO F			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	5	5
EXPUESTO	Compatible / Negativo <sup>1</sup>	2	11
	Compatible / Positivo <sup>2</sup>	1	
	Negativo / Negativo	7	
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo <sup>3</sup>	10	173
	Compatible / Positivo	4	
	Negativo / Negativo	154	
	Negativo / Positivo	5	
REACTOR	Compatible / Negativo <sup>4</sup>	17	93
	Compatible / Positivo <sup>5</sup>	14	
	Negativo / Negativo	60	
	Negativo / Positivo <sup>6</sup>	1	
	Sugestivo / Negativo	1	
SOSPECHOSO	Negativo / Negativo	2	2
TOTALES			284

<sup>1</sup>PCR punto final a 2 muestras, ambos resultados positivos.

<sup>2</sup>PCR punto final, resultado positivo.

<sup>3</sup>PCR punto final a 2 muestras, un resultado positivo y otro negativo.

<sup>4</sup>PCR punto final a 15 muestras; 2 negativas y 13 positivas.

<sup>5</sup>PCR punto final a 13 muestras; 1 negativo y 12 positivas.

<sup>6</sup>PCR punto final, resultado positivo.

Tabla 75.

ESTADO G			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	5	73
	Compatible / Positivo	3	
	Negativo / Negativo	62	

	Sugestivo / Negativo	2	
	Sugestivo / Positivo	1	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	5	5
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	5	36
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	30	
REACTOR	Compatible /Negativo	14	50
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	31	
	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Negativo	2	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	1	8
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	6	
TOTALES			172

Tabla 76.

ESTADO H			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			3

Tabla 77.

ESTADO I			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Positivo	2	2
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	7
	Negativo / Negativo	6	
REACTOR	Compatible /Negativo	2	4
	Negativo / Negativo	2	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	1	7
	Compatible / Positivo	3	
	Negativo / Negativo	3	
TOTALES			20

Tabla 78.

ESTADO J			
CLASIFICACIÓN DE	RESULTADOS DE	# DE	TOTAL

MUESTRA	LABORATORIO	MUESTRAS	
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Positivo	1	1
TOTALES			2

Tabla 79.

ESTADO K			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	26	26
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	1	17
	Negativo / Negativo	16	
REACTOR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			44

Tabla 80.

ESTADO L			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	6	165
	Compatible / Positivo	6	
	Negativo / Negativo	152	
	Sugestivo / Negativo	1	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	21	22
	Negativo / Positivo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	9	119
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	108	
REACTOR	Compatible / Negativo	15	184
	Compatible / Positivo	9	
	Negativo / Negativo	158	
	Negativo / Positivo	2	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo	7	115
	Compatible / Positivo	5	
	Negativo / Negativo	103	
S/D	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			608

Tabla 81.

ESTADO M			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	2	50
	Compatible / Positivo	2	
	Negativo / Negativo	46	
EXPUESTO	Negativo / Negativo	53	54
	Sugestivo / Negativo	1	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	2	126
	Negativo / Negativo	120	
	Negativo / Positivo	1	
	Sugestivo / Negativo	3	
REACTOR	Compatible / Negativo <sup>1</sup>	7	76
	Compatible / Positivo <sup>2</sup>	4	
	Negativo / Negativo	62	
	Negativo / Positivo	2	
	Sugestivo / Negativo <sup>3</sup>	1	
SOSPECHOSO	Compatible / Negativo <sup>4</sup>	2	20
	Negativo / Negativo	18	
S/D	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			329

<sup>1</sup>PCR punto final a 5 muestras; 2 negativas y 3 positivas.

<sup>2</sup>PCR punto final a una muestra, resultado negativo.

<sup>3</sup>PCR punto final, resultado positivo.

<sup>4</sup>PCR punto final a 1 muestra; resultado positivo.

Tabla 82.

ESTADO N			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
REACTOR	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	2	11
	Compatible / Positivo	1	
	Negativo / Negativo	8	
TOTALES			12

Tabla 83.

ESTADO O			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	3	26
	Negativo / Negativo	22	
	Sugestivo / Negativo	1	

MATANZA REGULAR	Compatible / Positivo	1	4
	Negativo / Negativo	3	
SOSPECHOSO	Compatible / Positivo	1	1
TOTALES			31

Tabla 84.

ESTADO Q			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

Tabla 85.

ESTADO R			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

Tabla 86.

ESTADO S			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	9	9
MATANZA REGULAR	Negativo / Positivo	6	6
TOTALES			15

Tabla 87.

ESTADO T			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Positivo	1	25
	Negativo / Negativo	24	
MATANZA REGULAR	Compatible / Negativo	27	142
	Compatible / Positivo	11	
	Negativo / Negativo <sup>1</sup>	97	
	Negativo / Positivo	4	
	Sugestivo / Negativo	3	
	Compatible / Negativo	3	
REACTOR	Compatible / Negativo	3	25
	Compatible / Positivo	3	

	Negativo / Negativo	19	
TOTALES			192

<sup>1</sup>PCR, resultado negativo.

Tabla 88.

ESTADO U			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	8	8
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	3	3
TOTALES			11

Tabla 89.

ESTADO V			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
S/D	S/D / Negativo	3	5
	S/D / Positivo	2	
TOTALES			5

Tabla 90.

ESTADO W			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	2	2
TOTALES			3

Tabla 91.

ESTADO X			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	1	2
	Negativo / Negativo	1	
MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	1	1
REACTOR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			4

Tabla 92.

ESTADO Y			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1

MATANZA REGULAR	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			2

Tabla 93.

ESTADO Z			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	1	1
TOTALES			1

Tabla 94.

ESTADO AA			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Negativo / Negativo	4	4
TOTALES			4

Tabla 95.

ESTADO AB			
CLASIFICACIÓN DE MUESTRA	RESULTADOS DE LABORATORIO	# DE MUESTRAS	TOTAL
DESCONOCIDO	Compatible / Negativo	2	5
	Negativo / Negativo	3	
TOTALES			5

De acuerdo a la clasificación de muestra hubo 472 desconocido, expuesto 117, de matanza regular 724, reactor 619 y 142 sospechoso. No se tomaron en cuenta aquellos cuyos resultados son parciales y/o hay ausencia de muestra, para completar su diagnóstico. En las siguientes tablas de contingencias (tablas 95-100) se muestran dichos resultados y sus resultados en las pruebas de laboratorio.



Tablas 96-100. Tablas de contingencia conforme a la clasificación de muestras, 2013.

Tabla 96. Clasificación de muestra Desconocido 2013

		Desconocido		
		AB		TOTAL
HT		POSITIVO	NEGATIVO	
	COMPATIBLE	17	24	41
	NEGATIVO	-	431	431
	TOTAL	17	455	472

Tabla 97. Clasificación de muestra Expuesto 2013

		Expuesto		
		AB		TOTAL
HT		POSITIVO	NEGATIVO	
	COMPATIBLE	7	8	15
	NEGATIVO	2	100	102
	TOTAL	9	108	117

Tabla 98. Clasificación de muestra Matanza Regular 2013

		Matanza Regular		
		AB		TOTAL
HT		POSITIVO	NEGATIVO	
	COMPATIBLE	21	62	83
	NEGATIVO	11	630	641
	TOTAL	32	692	724

Tabla 99. Clasificación de muestra Reactor 2013

Reactor		AB		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
HT	COMPATIBLE	46	106	152
	NEGATIVO	6	461	467
	TOTAL	52	567	619

Tabla 100. Clasificación de muestra Sospechoso 2013

Sospechoso		AB		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
HT	COMPATIBLE	12	12	24
	NEGATIVO	-	142	142
	TOTAL	12	154	166

Tabla 101. Resultados generales del 2013, especificidad y sensibilidad de las muestras oficiales.

2013		AB		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
HT	COMPATIBLE	103	212	315
	NEGATIVO	20	1782	1802
	TOTAL	123	1994	2117

Sensibilidad 32.70 %

Especificidad 98.89 %

## 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta análisis previamente realizados, en la República Mexicana en cuanto a la presencia de esta bacteria en el ganado, podemos ver que en cuanto a las muestras que fueron remitidas al laboratorio durante el periodo de tiempo establecido para este estudio, se ha visto un decremento de animales positivos a tuberculosis, tras las pruebas establecidas por la NOM-031-ZOO-1995, en el presente estudio retrospectivo vemos que en el periodo 2011-2012 hubo un aumento en cuanto a los animales positivos. En el periodo 2012-2013 hubo una disminución que podría corresponder a lo establecido a SAGARPA. [10]

Cabe mencionar la importancia de la identificación del animal reactor a la prueba en campo, de ahí la correcta toma y envío de muestra hasta el laboratorio certificado, para su posterior análisis en el mismo [8]. Se ha demostrado que la prueba de oro (aislamiento bacteriológico) es una prueba específica y con una buena sensibilidad a la hora de los resultados, pero hay que considerar el tiempo de espera para dicho resultado, tomando en cuenta la importancia de identificar animales posiblemente positivos dentro de un hato [28].

La exportación de ganado es un tema de gran importancia para la industria bovina en México, lo que motivó a la creación de regiones de “baja prevalencia” (0.5 – 0.01%). [10]

En los datos de este estudio, hay una concordancia en cuando a los estados presentes zonas en erradicación, donde hay una prevalencia menor al 2%; datos tomados de la SAGARPA. Sin embargo, la prevalencia real de TB es menor a este 2% en muchas regiones del país. Lo cual concuerda con la exportación de ganado de pie a los Estados Unidos de América. Siendo los estados localizados al norte de México, datos corroborados a escala dentro del

lugar de estudio de dicha investigación.

La importancia de hacer un estudio retrospectivo es el identificar la presencia de dicha enfermedad en los hatos, evaluar los datos obtenidos y poder así evaluar la especificidad y sensibilidad de las pruebas; establecer un mejor protocolo en el diagnóstico de ser necesario. Abrir campo a estudios posteriores para mejorar en las campañas para el control y erradicación, como se ha demostrado en estudios en países de Europa, como España, Irlanda, Reino Unido; así como también en el sur de América, como Brasil, donde se busca mejorar en el diagnóstico y control de la TB [26-28].

Es importante evaluar a nivel campo, cuales son los factores de riesgo que evitan que una zona de control pase a zona de erradicación, como el Grupo Científico Independiente (DEFRA) en el 2007 reportó que hubo un incremento en granjas debido a la introducción de animales a la granja, y a los posibles reservorios silvestres [14].

Se encontró en este periodo de tiempo, las muestras que fueron remitidas al LCRM con resultados positivos a AB e HP fueron animales reactivos a la prueba de tuberculina principalmente, seguido de matanza regular. Esto sugiere fuertemente que tanto a nivel campo y como a nivel de rastro se está llevando un correcto protocolo de acorde a la NOM-031-ZOO-1995. Esto es muy importante porque conlleva a una correcta toma de decisiones para el control de la tuberculosis bovina en México.

## 6. LITERATURA CITADA

- [1] P. Robinson, D. Morris, and R. Antic, "Mycobacterium bovis as an occupational hazard in abattoir workers," *Aust NZJ Med*, vol. V, pp. 701-703, 1988.
- [2] J. Rodriguez, G. Mejia, P. Del Portillo, M. Patarroyo, and L. Murillo, "Species-specific identification of Mycobacterium bovis by PCR," *Microbiology*, pp. 2131-2138, 1995.
- [3] R. Smith, F. Drobniewski, A. Gibson, J. Montague, M. Logan, D. Hunt, *et al.*, "Mycobacterium bovis infection, United Kingdom," *Emerg Infect Dis*, pp. 539-541, 2004.
- [4] "<http://www.oie.int>," in *Bovine Tuberculosis*, ed: OIE, 2009.
- [5] OIE, *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres.*, Quinta Edición ed. vol. II, 2004.
- [6] M. Gilbert, A. Mitchell, D. Bourn, J. Mawdsley, R. Clifton-Hadley, and W. Wint, "Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain," vol. 435, pp. 491-496, 2005.
- [7] J. D. Collins, "Tuberculosis in cattle: new perspectives," *Tuberculosis*, vol. 81, pp. 17-21, 2// 2001.
- [8] G. y. D. R. Secretaría de Agricultura, "Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la tuberculosis bovina," *Diario Oficial*, México1996.
- [9] G. Secretaría de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, "Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria," ed, 2013.
- [10] G. Secretaría de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, "Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria," ed, 2014.
- [11] A. E. Hoet and E. S.-B. C. González-Stagnaro, "Bioseguridad para el rebaño," *Manual de Ganadería Doble Propósito.*, vol. VIII, pp. 283-290, 2005.

- [12] J. M. Pollock and S. D. Neill, "Mycobacterium bovis Infection and Tuberculosis in Cattle," *The Veterinary Journal*, vol. 163, pp. 115-127, 3// 2002.
- [13] R. Frothingham, "Differentiation of strains in Mycobacterium tuberculosis complex by DNA sequence polymorphisms, including rapid identification of M. bovis BCG," *J. Clin. Microbiol.*, pp. 840-844, 1995.
- [14] N. Cotrina, "Epizootiología de la tuberculosis bovina.," *Científico-Técnica*, p. 135, 1987.
- [15] P. Retamal, "Tuberculosis Bovina: una breve actualización.," *Monografías Med. Vet.*, vol. 20, pp. 78-84, 2000.
- [16] J. M. Pollock, J. McNair, M. D. Welsh, R. M. Girvin, H. E. Kennedy, D. P. Mackie, *et al.*, "Immune responses in bovine tuberculosis," *Tuberculosis*, vol. 81, pp. 103-107, 2// 2001.
- [17] J. F. T. Griffin, C. R. Rodgers, S. Liggett, and C. G. Mackintosh, "Tuberculosis in ruminants: Characteristics of intra-tonsillar Mycobacterium bovis infection models in cattle and deer," *Tuberculosis*, vol. 86, pp. 404-418, 11// 2006.
- [18] A. V. Goodchild and R. S. Clifton-Hadley, "Cattle-to-cattle transmission of Mycobacterium bovis," *Tuberculosis*, vol. 81, pp. 23-41, 2// 2001.
- [19] J. M. Pollock, J. D. Rodgers, M. D. Welsh, and J. McNair, "Pathogenesis of bovine tuberculosis: The role of experimental models of infection," *Veterinary Microbiology*, vol. 112, pp. 141-150, 2/25/ 2006.
- [20] S. D. Neill, D. G. Bryson, and J. M. Pollock, "Pathogenesis of tuberculosis in cattle," *Tuberculosis*, vol. 81, pp. 79-86, 2// 2001.
- [21] M. Ehlers and M. Daffé. (1998) Interactions between Mycobacterium tuberculosis and host cells: are mycobacterial sugars the key? *Trends in Microbiology*. 328-335.
- [22] D. Cousins, L. Corner, J. Tolson, S. Jones, and P. Wood, *Eradication of bovine tuberculosis from Australia: Key Management and Technical Aspects.*, 1998.
- [23] E. B. Prophet, B. Mills, J. B. Arrington, and L. H. Sobin, "Métodos

Histotecnológicos del Instituto de patología de las fuerzas armadas de EE.UU," ed.

- [24] P. H. M. Savelkoul, A. Catsburg, S. Mulder, L. Oostendorp, J. Schirm, H. Wilke, *et al.*, "Detection of Mycobacterium tuberculosis complex with Real Time PCR: Comparison of different primer-probe sets based on the IS6110 element," *Journal of Microbiological Methods*, pp. 177–180, 2006.
- [25] T. C. Thacker, B. Harris, M. V. Palmer, and W. R. Waters, "Improved specificity for detection of Mycobacterium bovis in fresh tissues using IS6110 real-time PCR," *BMC Veterinary Research*, vol. 7, 2011.
- [26] S. Guta, J. Casal, A. Garcia-Saenz, J. L. Saez, A. Pacios, P. Garcia, *et al.*, "Risk factors for bovine tuberculosis persistence in beef herds of Southern and Central Spain," *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 115, pp. 173-180, 8/1/ 2014.
- [27] A. Shittu, R. S. Clifton-Hadley, E. R. Ely, P. U. Upton, and S. H. Downs, "Factors associated with bovine tuberculosis confirmation rates in suspect lesions found in cattle at routine slaughter in Great Britain, 2003–2008," *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 110, pp. 395-404, 7/1/ 2013.
- [28] D. M. Wolfe, O. Berke, S. J. More, D. F. Kelton, P. W. White, J. J. O’Keeffe, *et al.*, "The risk of a positive test for bovine tuberculosis in cattle purchased from herds with and without a recent history of bovine tuberculosis in Ireland," *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 92, pp. 99-105, 11/1/ 2009.

Otras literaturas citadas:

-NOM-056-200-1995; Manual de procedimientos de laboratorio Indre/Sagarpa; Diagnóstico bioquímico de Micobacterias.

-NOM-031-ZOO-1995. Campaña nacional contra la tuberculosis bovina.

-NOM-056-ZOO-1995. Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas

que laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

-Manual de inspección sanitaria para ganado vacuno sospechoso de tuberculosis bovina. Junio 2011. Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera.